

# Diagnóstico de *Babesia bovis* (Babesiidae) y *Babesia bigemina* (Babesiidae) en garrapatas recolectadas en los municipios Turbo y Necoclí (Antioquia) en 2014

Diagnosis of *Babesia bovis* (Babesiidae) and *Babesia bigemina* (Babesiidae) in ticks collected from Turbo and Necoclí municipalities (Antioquia) in 2014

Juliana González-Obando<sup>1</sup>, Andrés F. Holguín-Rocha<sup>1</sup>, Alberto Tobón-Castaño<sup>1\*</sup>

## Resumen

La babesiosis afecta principalmente a bovinos y humanos; en su transmisión están implicadas las garrapatas, particularmente *Rhipicephalus microplus*, especie distribuida ampliamente en Latinoamérica. El método diagnóstico utilizado para determinar la presencia de *Babesia* spp. en garrapatas es la microscopía de hemolinfa, diagnóstico menos sensible que la PCR, la cual tiene una sensibilidad entre 95 %-100 % y una especificidad del 100 %. En Colombia, zonas como la Costa Atlántica, el Bajo Cauca y Urabá son ecológicamente aptas para la presencia del parásito y del vector, considerando que se han registrado garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Amblyomma* y *Rhipicephalus*, implicadas en la transmisión de diversos patógenos de interés médico y veterinario. El estudio de la dinámica de transmisión por garrapatas es esencial para la elaboración de estrategias de control adecuadas. El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de garrapatas presentes en predios ganaderos de la región de Urabá (Colombia) y su frecuencia de infección por *Babesia bovis* y *B. bigemina*. Se muestrearon 202 bovinos, en 30 predios de 15 localidades de los municipios Turbo y Necoclí. Se recolectaron 515 garrapatas; la especie predominante fue *R. microplus* 98 % (507/515); la presencia del género *Amblyomma* estuvo asociada a predios aledaños de zonas boscosas. La frecuencia de infección en 162 subconjuntos de garrapatas (154 de *R. microplus* y 8 de *A. cajennense*) fue de 18,5 % (30/162) por *Babesia* spp., 15,4 % (25/162) por *B. bigemina*, 4,9 % (8/162) por *B. bovis*; y 1,8 % (3/162) por coinfección de estas especies.

**Palabras claves:** babesiosis, Colombia, ganado, hemolinfa, PCR

## Abstract

Babesiosis affects mainly cattle and humans; ticks are involved in its transmission, especially *Rhipicephalus microplus*, widely distributed in Latin America. The diagnostic method used in ticks to determine the presence of *Babesia* spp. is hemolymph microscopy, a diagnosis less sensitive than PCR, which has a sensitivity between 95%-100%, and a specificity of 100%. In Colombia, regions such as Costa Atlántica, Bajo Cauca and Urabá are ecologically suitable for the presence of the parasite and the vector, considering that the presence of ticks of the genus *Dermacentor*, *Amblyomma* and *Rhipicephalus*, implicated in the transmission of various pathogens of medical and veterinary interest, has been reported in them. The study of the dynamics of transmission by ticks is essential for the development of adequate control strategies. The main goal of this study was to identify the tick species present in livestock farms from Urabá (Colombia) and their frequency of infection by *Babesia bovis* and *B. bigemina*. 202 bovines were sampled in 30 farms from 15 localities from the Turbo and Necoclí municipalities. 515 ticks were collected; the predominant species was *R. microplus* 98% (507/515);

<sup>1</sup>- Grupo Malaria, Sede de Investigación Universitaria (SIU), Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

\* Autor de correspondencia: <alberto.tobon1@udea.edu.co>

the presence of the genus *Amblyomma* was associated with neighboring farms in forested areas. The frequency of infection in 162 subsets of ticks (154 from *R. microplus* and 8 from *A. cajennense*) was 18.5% (30/162) by *Babesia* spp., 15.4% (25/162) by *B. bigemina*, 4.9% (8/162) by *B. bovis*; and 1.8% (3/162) by coinfection from these species.

**Keywords:** babesiosis, Colombia, cattle, hemolymph, PCR

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores son un tema de interés en la salud pública dado el incremento de zoonosis emergentes en las últimas décadas; esto ha suscitado un mayor interés en su caracterización y el estudio de la biología de los vectores implicados (Kristian-Clauss 2016). Entre estas enfermedades se incluye la babesiosis, causada por parásitos del género *Babesia* que afectan distintas especies de animales. La babesiosis bovina es causada principalmente por *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* y *B. major* (Gray y De Vos 1981); también denominada como fiebre de Texas o piroplasmosis, causa graves pérdidas económicas por el alto número de cabezas de ganado en el mundo que están en riesgo de contraer la enfermedad. En el hombre, los agentes etiológicos más frecuentes de esta enfermedad son *B. microti*, *B. divergens*, *B. duncani*, *B. venatorum* y una especie identificada en Corea denominada temporalmente como *KO1* (Vannier et al. 2015). La infección produce generalmente un síndrome febril agudo; la mayoría de casos clínicos se registran principalmente en Norteamérica, debidos a *B. microti* y en Europa a *B. divergens* (Goethert et al. 2018, Zintl et al. 2017).

Las garrapatas duras (Acari: Ixodidae), además de ser los vectores de los protozoos *Babesia* spp. y *Theileria* spp., están implicadas en la transmisión de bacteriosis (fiebre Q, bartonelosis y tularemia), rickettsiosis, anaplasmosis, ehrlichiosis, fiebre manchada y borreliosis (enfermedad de Lyme) (Anderson 2008). También transmiten enfermedades causadas por virus (fiebre del Colorado, encefalomiелitis infecciosa de las ovejas y peste porcina africana) y actinomicetos (*Dermatophilus congolensis*) (Nicholson et al. 2009); adicionalmente, existe evidencia experimental de la transmisión de filarias como *Dipetalonema dracunculoides* (Cortés-Vecino 2011, Felgueroso 2011, Márquez, et al. 2005, Olmeda et al. 1993).

En América del Sur, los principales vectores de *B. bovis* y *B. bigemina* son las especies del género *Rhipicephalus*. Se ha identificado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* como el vector principal en la transmisión de *Babesia* spp. a bovinos; esta especie se distribuye desde Uruguay y el norte de Argentina hasta Guatemala (exceptuando Chile) y México, áreas que concuerdan con la presencia del parásito (Alonso 1992, Guglielmone 1995, Mosqueda et al. 2012). En Colombia, la babesiosis bovina también presenta un amplio rango de distribución, especialmente en regiones con altitudes inferiores a los 2.200 m s. n. m., temperaturas entre los 28-32 °C y humedad entre 85-90%. Zonas como la Costa Atlántica, el Bajo Cauca y Urabá son ecológicamente aptas para la presencia del vector y por consecuencia del parásito (Ríos 2010). En el país se registran garrapatas de los géneros *Dermacentor (Anocentor)*, *Haemaphysalis*, *Ixodes*, *Amblyomma* y *Rhipicephalus (Boophilus)* (Osorno-Mesa 2006); estos dos últimos géneros se han reportado en la región del Urabá (Samir 2010). *Rhipicephalus microplus* se registra en altitudes por encima de 2.600 m s. n. m., en hatos de ganado lechero del altiplano cundiboyacense, lo que evidencia cambios en la ecología de este vector (Cortés-Vecino 2011).

La clasificación taxonómica de las especies de garrapatas se basa, principalmente, en la morfo-taxonomía del artrópodo (Barros-Battesti 2006). De otro lado, los estudios sobre la tasa de infección con *Babesia* spp. en hembras de *R. microplus* se realizaban anteriormente mediante el examen microscópico de muestras de hemolinfa (Riek 1964 1966); sin embargo, este método puede subestimar la tasa de infección (Guglielmone 1985) por lo cual se propone, como alternativa, el análisis molecular a partir de la amplificación de ADN del protozoo por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Figueroa 1995), método más eficiente y sensible que la microscopía (Quintao 2007).

El estudio de la dinámica de la transmisión de *Babesia* spp. es esencial para la elaboración de estrategias de control adecuadas; la detección e identificación de este parásito en las garrapatas, además de contribuir con información sobre la prevalencia de esta infección en vertebrados, aporta al estudio de un problema de salud humana. El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de garrapatas que infestan bovinos de la región de Urabá (Colombia) y medir la frecuencia de garrapatas portadoras de *B. bovis* y *B. bigemina* mediante diagnóstico microscópico y molecular.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Tipo y área de estudio.** Estudio descriptivo, transversal, realizado entre agosto y octubre de 2014 en la región del Urabá Antioqueño, en zonas rurales de los municipios de Turbo (8° 05' 42" N; 76° 44' 23" W) y Necoclí (8° 25' 39" N; 76° 46' 58" W). La temperatura promedio de ambos municipios es 28 °C. La región es eje de la economía nacional, además de ser ganadera, pesquera y productora de banano tipo exportación, es una región endémica para malaria y otras enfermedades causantes de síndrome febril agudo. En Turbo se practica la ganadería de producción de leche y carne en pequeña escala, con la mayor cantidad de cabezas de bovinos en la región (Ministerio de Trabajo de Colombia 2013). La ganadería en el municipio de Necoclí es de carácter extensivo, con poca tecnificación y con predominio de las razas Cebú, Brahmán y sus cruces; los cruces lecheros han incrementado, especialmente los cruces Cebú con las razas lecheras Holstein y Simmental. En general, el sector ganadero no se caracteriza por ser ordenado y se evidencian problemas de mejoramiento genético y de pastos (Alcaldía de Necoclí 2012).

**Muestreo.** La recolección de especímenes se realizó en 15 localidades de las cuales, mediante muestreo aleatorio estratificado, se seleccionaron 30 predios ganaderos de una lista obtenida del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA); se consideró como criterio de exclusión el uso de garrapaticidas en los 8 días previos a la visita y la vacunación contra babesiosis (vacuna Anabasan, Limor de Colombia). La población de análisis estuvo conformada por garrapatas

halladas en una muestra estadística de 202 bovinos, seleccionados no aleatoriamente entre aquellos disponibles en los corrales para las prácticas ganaderas de rutina; la muestra fue calculada a partir de una población de 280.767 bovinos en ambos municipios (Secretaría de Agricultura de Antioquia 2014) y una frecuencia estimada de babesiosis del 13,65 % (Herrera 2008, Ríos 2010). Se recolectaron al menos cinco especímenes a conveniencia por bovino; se determinó la carga parasitaria en cada bovino y predio con la técnica descrita por Álvarez y Bonilla (2003).

### Clasificación y preservación de especímenes.

Cada grupo de garrapatas fue almacenado en un recipiente previamente rotulado y la información se consignó en la ficha clínica de cada bovino; las garrapatas se incubaron durante siete días y se almacenaron en isopropanol para el análisis en laboratorio. Posteriormente, se identificaron taxonómicamente teniendo como referencia la guía ilustrada "Garrapatas de importancia médico-veterinaria de la región neotropical" (Barros-Battesti 2006); los especímenes fueron separados en subconjuntos según especie, estadio y sexo. Para la confirmación de las especies en los especímenes que por taxonomía fueron clasificados dentro del género *Amblyomma*, se amplificó la secuencia mitocondrial de la subunidad 16S del ARN ribosomal (16S), mediante la técnica descrita previamente por Paternina 2016.

**Diagnóstico de *Babesia*.** Las garrapatas fueron bañadas con solución buffer PBS (pH 7,4) afín de eliminar cualquier residuo de isopropanol; posteriormente, se colocaron en baño seco durante 20 min a 57 °C y se almacenaron a -20 °C para posterior extracción de glándulas salivales, siguiendo el protocolo de Patton et al. (2012), para garantizar la mayor cantidad de tejido salival para la extracción de ADN. Para la extracción de ADN se usó el Kit de Qiagen® (*Blood and Tissue*, Cat No/ID: 69506). El diagnóstico molecular se realizó de acuerdo con la metodología previamente descrita por Terkawy et al. (2012) la cual consiste, brevemente, en hacer el diagnóstico mediante una PCR anidada: desnaturalización inicial del ADN por 5 min a 95 °C, seguida de 35 ciclos de desnaturalización; los cebadores usados para la secuenciación fueron los descritos por Figueroa et al. (1992).

**Consideraciones éticas.** La recolección de los especímenes se realizó cumpliendo la normatividad establecida por el estado colombiano (Resolución 0524 DE 2014, Autoridad Nacional de Licencias Ambientales-ANLA). Los procedimientos fueron aprobados por el Comité de bioética y el Comité de investigación con animales de la Sede de Investigación Universitaria de la Universidad de Antioquia (Actas 13-32-436 del 2012 y 15-32-436 de 2015).

## RESULTADOS

En 141, de los 202 bovinos muestreados, se recolectaron 515 garrapatas (en 61 bovinos no se identificaron garrapatas), estableciéndose una mediana de parasitación de 24 garrapatas/bovino en Turbo y de 1,5 en Necoclí. La cantidad máxima de garrapatas por bovinos que habitaban un mismo predio en Turbo fue 152 y en Necoclí fue 10. La especie *R. microplus* fue la de mayor prevalencia, presente en el 98,44% de las garrapatas, de las cuales el 97% fueron adultos con predominio de hembras (93%), en los dos municipios (tabla 1). La carga parasitaria de garrapatas fue superior en los predios del municipio de Turbo, destacándose los corregimientos El dos, El tres y Alto mulatos, con índices de parasitación por ható hasta de 79, 66 y 56 garrapatas/bovino, respectivamente. En el municipio de Necoclí se destacaron los predios pertenecientes a los corregimientos Mulatos y Cabecera Municipal, con índices de parasitación por ható hasta de 52 y 46 garrapatas/bovino, respectivamente.

El diagnóstico de *Babesia* spp. se realizó en 154 subconjuntos de *R. microplus* (507 individuos) mientras que los ocho especímenes de *Amblyomma cajennense* se analizaron individualmente, para un total de 162 resultados. La frecuencia de infección por *Babesia* spp. fue del 18,5% (30/162), 4,9% (8/162) por *B. bovis* y 15,4% (25/162) por *B. bigemina*; se encontró 1,8% de coinfección por estas especies (tres garrapatas). La proporción de infección en los subconjuntos de *R. microplus* fue 18,2% (28/154); de estos, 82,1% (23/28) por *B. bigemina* y 28,6% (8/28) con *B. bovis*, incluyendo tres coinfecciones; la positividad fue más frecuente en el estadio ninfa (82,8%) y en las hembras (84,4%). En los ocho individuos procesados

de la especie *A. cajennense*, el 25% (2/8) resultó positivo para *B. bovis* (tabla 2).

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica por especies, etapa y sexo de las garrapatas recolectadas de los municipios Turbo y Necoclí (Antioquia)

Variable	Turbo n=333	Necoclí n=182	Total n=515
<b>Especie</b>			
<i>Rhipicephalus microplus</i>	327 (98,2%)	180 (99%)	507 (98,44%)
<i>Amblyomma cajennense</i>	6 (1,8%)	2 (1%)	8 (1,56%)
<b>Estadio</b>			
Adulto	320 (96%)	178 (98%)	498 (97%)
Ninfa	13 (4%)	4 (2%)	17 (3%)
<b>Sexo*</b>			
Hembra	299 (93,4%)	166 (93%)	465 (93%)
Macho	21 (6,6%)	12 (7%)	33 (7%)

\* Solo para adultos

## DISCUSIÓN

Los agentes etiológicos de la Babesiosis bovina incluyen las especies *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. major*, *B. occultans*, *B. ovata*, *B. divergens* y *B. sp (Kashi)* (Schnittger et al, 2012), siendo *R. microplus* e *Ixodes ricinus* los principales vectores (Alonso et al. 1992). En Latinoamérica y en Colombia se ha descrito la presencia de *B. bovis* y *B. bigemina* en *R. microplus* (Bock et al. 2004, Ríos-Tobón et al. 2014). En este estudio, el 70% de los 202 bovinos estudiados se encontraron parasitados por garrapatas de la especie *R. microplus* (98% y 99% en Turbo y en Necoclí, respectivamente). Además, como aporte al estudio de vectores, se encontraron ocho especímenes del género *Amblyomma* en los bovinos, dos de estos fueron positivos para *Babesia* spp. por la técnica molecular PCR. Los predios donde fueron recolectadas las garrapatas de este género se ubican en zonas fronterizas con bosques, corregimiento 'Alto

Mulatos' en Turbo y 'Las Changas' en el municipio de Necoclí. Este género en particular de garrapatas prefiere zonas contiguas a bosques, ya que allí se encuentran poblaciones de vertebrados silvestres que sirven de hospederos; además de parasitar animales domésticos y humanos, siendo el vector implicado en la transmisión de *Rickettsia* spp. (Acevedo-Gutiérrez et al. 2018).

**Tabla 2.** Porcentaje de infección por *Babesia* spp. en los subconjuntos de garrapatas recolectadas en ganado de los municipios Turbo y Necoclí (Antioquia)

Característica	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total
<b>Especie*</b>			
<i>Rhipicephalus microplus</i>	28 (18,2%)	126 (81,8%)	154
<i>Amblyomma cajennense</i>	2 (25,0%)	6 (75,0%)	8
<b>Estadio</b>			
Adulto	125 (82,8%)	26 (17,2%)	151
Ninfa	7 (63,6%)	4 (36,4%)	11
<b>Sexo</b>			
Hembra	114 (84,4%)	21 (15,6%)	135
Macho	11 (68,8%)	5 (31,3%)	16

\*Los especímenes de *A. cajennense* se estudiaron individualmente.

*Amblyomma cajennense* se considera un complejo de seis especies de garrapatas, distribuidas en ambientes tan diversos como pastizales y tierras altas; se encuentran desde el sur de los Estados Unidos (Texas y Florida) hasta el norte de Argentina; se registra como la garrapata más frecuente en la infestación y transmisión de enfermedades a humanos en Suramérica, afectando también bovinos, equinos y caninos (Nava et al. 2014). En Colombia se ha recolectado en zonas de distinta altitud entre los 0 y 1000 m s. n. m. (Cortés-Vecino 2011). Aunque mediante la taxonomía convencional se puede identificar esta especie *sensu lato*, para definir alguna de las seis especies del

complejo se requiere secuenciación genómica (Nava et al. 2014).

El estudio molecular de estos hemoparásitos ha sido implementado para el diagnóstico en el hospedero más no en el vector, debido a que los programas de control agropecuario regularmente solicitan la certificación para el transporte de ganado bovino, desconociendo que en el vector artrópodo se puede estar transportando el parásito. A esto se suma la diversidad de métodos moleculares para el diagnóstico de estos agentes infecciosos y la falta de consenso sobre cuál es el mejor método para el estudio de *Babesia*, situaciones que contribuyen al desconocimiento de la magnitud de estas infecciones.

La especie *R. microplus* fue la especie identificada con mayor frecuencia en el ganado muestreado, portadora tanto de *B. bigemina* como de *B. bovis*; los mayores índices de parasitación se encontraron en el municipio de Turbo, lo que sugiere que en estas zonas deben dirigirse medidas de control contra la garrapata. Se encontró *A. cajennense* parasitando bovinos en una baja proporción, con presencia de *B. bovis*.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó gracias al proyecto "Babesiosis humana en regiones epidemiológicamente aptas para la transmisión de Malaria y Babesia humana (estudio molecular de garrapatas, bovinos y humanos)" financiado con recursos CODI de la Universidad de Antioquia. Agradecemos al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) por suministrar la información solicitada para el diseño del estudio, igualmente a los ganaderos de los municipios de Turbo y Necoclí por aceptar la participación en el estudio; finalmente un agradecimiento muy especial al personal del Hospital Francisco Valderrama por facilitar el espacio y parte de su material para procesar muestras.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

## REFERENCIAS

- Acevedo-Gutiérrez LY, Paternina LE, Londoño AF, Parra-Henao G, Rodas JD. 2018. Modelos potenciales de distribución geográfica y climática del complejo *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), potencial vector de *Rickettsia rickettsii* en Colombia. *Biomedica*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 38: 534-544. doi:10.7705/biomedica.v38i4.3916.
- Alcaldía Municipal de Necoclí. 2012. Plan De Desarrollo Municipal 2012-2015. Adalberto Baena Oyola. Necoclí (Antioquia); [fecha de acceso junio 6, 2014]; p. 118. <http://cdim.esap.edu.co/BancoMedios/Documentos%20PDF/nacocliantioquiapd2012-2015.pdf>.
- Alonso M, Arellano-Sota C, Cereser VH, Cordoves C O, Guglielmone AA, Kessler R, Mangold AJ, Nari A, Patarroyo JH, Solari MA, Vega CA, Vizcaino O, Camus E. 1992. Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Latin America and the Caribbean. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 11: 713-733. doi:10.20506/rst.11.3.623.
- Álvarez V, Bonilla R. 2003. Frecuencia relativa de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) en bovinos (*Bos taurus* y *B. indicus*) en ocho zonas ecológicas de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 51(2). [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442003000200015&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442003000200015&lng=en&tlng=es).
- Anderson JF, Magnarelli LA. 2008. Biology of ticks. *Infectious Disease Clinics of North America*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 22: 195-215. doi:10.1016/j.idc.2007.12.006.
- Barros-Battesti DE. 2006. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: (UM guia ilustrado para identificação de espécies). Sao Paulo, Integrated Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases-ICTTD Editor. Vox ISBN: 85-99909-01.
- Bock R, Jackson L, De Vos A, Jorgensen W. 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitology*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 129(Suppl): S247-269. doi:10.1017/s0031182004005190.
- Clauss K, Ottinger M, Kuenzer C. 2016. Aquaculture: relevance, distribution, impacts and spatial assessments. A review. *Ocean & Coastal Management*, 119: 244-266. doi:10.1016/j.ocecoaman.2015.10.015.
- Cortés-Vecino J. 2011. Garrapatas: estado actual y perspectivas. *Biomedica*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 31(sup.3): 3-315. doi:10.7705/biomedica.v31i0.540.
- Felgueroso A. 2011. Las garrapatas como agentes transmisores de enfermedades para los animales y el hombre. *Tecnología Agroalimentaria*; 9:21-24. ISSN 1135-6030. <http://www.serida.org/pdfs/4812.pdf>.
- Figuroa JV, Chieves LP, Johnson GS, Buening GM. 1992. Detection of Babesia bigemina-infected carriers by polymerase chain reaction amplification. *Journal of Clinical Microbiology*, 30: 2576-2582. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC270481/pdf/jcm00034-0070.pdf>.
- Figuroa JV, Buening AG. 1995. Nucleic acid probes as a diagnostic method for tick-borne hemoparasites of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 57: 75-92. doi:10.1016/0304-4017(94)03112-a.
- Goethert HK, Molloy P, Berardi V, Weeks K, Telford SR. 2018. Zoonotic *Babesia microti* in the Northeastern U.S.: Evidence for the expansion of a specific parasite lineage. *PLoS One*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 13: e0193837. doi:10.1371/journal.pone.0193837.
- Gray J, De-Vos A. 1981. Studies on a bovine Babesia transmitted by Hyalomma marginatum rufipes Koch. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 48: 215-223. <https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/51870/36gray1981.pdf?sequence=2>.
- Guglielmone AA, Mangold AJ, Bermudez AC, Hadani, A. 1985. Detección de merozoitos grandes (vermiculos) de Babesia en teleoginas de Boophilus microplus alimentadas sobre terneros con distintos niveles de parasitemia de Babesia bigemina y Babesia bovis. *Revista Iberica de Parasitología*, 454: 303-311. <https://eurekamag.com/research/020/833/020833415.php>.
- Guglielmone A. 1995. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Veterinary Parasitology*, 57: 109-119. doi:10.1016/0304-4017(94)03115-d.
- Herrera M, Soto A, Urrego V, Rivera G, Zapata M, Rios L. 2008. Frecuencia de hemoparásitos en bovinos del Bajo Cauca y Alto San Jorge. *Revista MVZ Córdoba*, 13(3). doi:10.21897/rmvz.380.
- Marquez-Jiménez FJ, Hidalgo-Pontiveros A, Contreras-Chova F, Rodríguez-Liébana JJ, Muniain-Ezcurra MÁ. 2005. Las garrapatas (Acarina: Ixodida) como transmisores y reservorios de microorganismos patógenos en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiológica Clínica*, [fecha de acceso marzo 27, 2019] 23: 94-102. doi:10.1157/13071613.
- Ministerio de Trabajo, República de Colombia. 2013. Perfil productivo del municipio de Turbo. 2013. [fecha de acceso 5 de junio 2015]. [www.mintrabajo.gov.co/component/docman/doc.../1634-perfilturbo.html](http://www.mintrabajo.gov.co/component/docman/doc.../1634-perfilturbo.html).
- Morzaria S, Katende J, Kairo A, Nene V, Musoke A. 1992. New methods for the diagnosis of Babesia bigemina infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 201-205. doi:10.1590/s0074-02761992000700033.
- Mosqueda JJ, Falcón A, Ramos JA, Canto GJ, Camacho-Nuez M. 2012. Estrategias genómicas y moleculares para el control de la babesiosis bovina. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3(Supl. 1): 51-59. [fecha de acceso marzo 27, 2019]; [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11242012000500007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000500007&lng=es&tlng=es).
- Nava S, Beati L, Labruna MB, Cáceres AG, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2014. Reassessment of the taxonomic status of Amblyomma cajennense with the description of three new species, Amblyomma tonelliae n. sp., Amblyomma interandinum n. sp. and Amblyomma patinoi n. sp., and reinstatement of Amblyomma mixtum and Amblyomma sculptum (Ixodida: Ixodidae). *Ticks and Tick-Borne Diseases*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 5: 252-276. doi:10.1016/j.ttbdis.2013.11.004.
- Nicholson WL, Sonenshine DE, Lane RS, Uilenberg G. 2009. Ticks (Ixodida). En: G Mullen, L Durden, editores. *Medical and Veterinary Entomology*. Second edition. San Diego: Academic Press. p. 493-542.

- Olmeda AS, Armstrong PM, Rosenthal BM, Valladares B, Del Castillo A, De Armas F, Miguelez M, Gonzalez A, Rodriguez-Rodriguez JA, Telford III SR. 1997. A subtropical case of human babesiosis. *Acta tropica*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 67: 229-234. doi:10.1016/s0001-706x(97)00045-4.
- Osorno-Mesa E. 2006. Las garrapatas de la República de Colombia. *Biomédica*, 26: 317-336. doi:10.7705/biomedica.v26i3.351.
- Paternina LE, Verbel-Vergara D, Bejarano EE. 2016. Comparación y utilidad de las regiones mitocondriales de los genes 16S y COX1 para los análisis genéticos en garrapatas (Acari: Ixodidae). *Biomédica*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 36: 295-302. doi:10.7705/biomedica.v36i2.3116.
- Patton TG, Dietrich G, Brandt K, Dolan MC, Piesman J, Gilmore RD Jr. 2012. Saliva, salivary gland, and hemolymph collection from *Ixodes scapularis* ticks. *Journal of Visualized Experiments*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 60, e3894. doi:10.3791/3894.
- Quintao-Silva MG, Melo MN, Ribeiro MF. 2007. Comparison of duplex PCR and microscopic techniques for the identification of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in engorged female ticks of *Boophilus microplus*. *Zoonoses and Public Health*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 54: 147-151. doi:10.1111/j.1863-2378.2007.01037.x.
- Riek RF. 1964. The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith and Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Australian Journal of Agricultural Research*, 15: 802 - 821. procite:8ed5d5ad-b3ae-4d21-8084-4881540f3883.
- Riek RF. 1966. The life cycle of *Babesia argentina* (Lignieres, 1903) (Sporozoa: Piroplasmidea) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *Australian Journal of Agricultural Research*, 17: 247-254. procite:8ed5d5ad-b3ae-4d21-8084-4881540f3883.
- Ríos S. 2010. Evaluación de indicadores de babesiosis bovina en garrapatas *Rhipicephalus* y *Boophilus microplus* y bovinos de 3-9 meses de la zona del Magdalena Medio Colombiano [Tesis de Maestría]. [Medellín, Colombia]: Escuela de Microbiología y Bioanálisis, Universidad de Antioquia.
- Ríos-Tobón S, Gutierrez-Builes L, Ríos-Osorio L. 2014. Assessing bovine babesiosis in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* ticks and 3 to 9-month-old cattle in the middle Magdalena region, Colombia. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 34: 313-319. doi:10.1590/S0100-736X2014000400002.
- Samir J, Catan J. 2010. Fiebre manchada de las montañas: ni tan manchada ni tan montañosa como pensábamos. *Infectio*, 14: 264-276. <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v14n4/v14n4a05.pdf>.
- Secretaría de Agricultura de Antioquia. Gobernación de Antioquia. 2014. Población de Bovinos-Antioquia. [fecha de acceso agosto 12, 2014]; <https://www.adr.gov.co/servicios/pidaret/ANTIOQUIA-TOMO%201.pdf>.
- Schnittger L, Rodriguez AE, Florin-Christensen M, Morrison DA. 2012. Babesia: a world emerging. *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 12: 1788-809. doi:10.1016/j.meegid.2012.07.004.
- Terkawi MA, Alhasan H, Huyen NX, Sabagh A, Awier K, Cao S, Goo YK, Aboge G, Yokoama N, Nishikawa Y, Kalb-Allouz AK, Tabbaa D, Igarashi I, Xuan X. 2012. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from central region of Syria. *Veterinary Parasitology*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 187: 307-11. doi:10.1016/j.vetpar.2011.12.038.
- Vannier EG, Diuk-Wasser MA, Ben-Mamoun C, Krause PJ. 2015. Babesiosis. *Infectious Disease Clinics of North America*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 29: 357-370. doi:10.1016/j.idc.2015.02.008.
- Vargas-Hernandez G, André MR, Faria JL, Munhoz TD, Hernandez-Rodriguez M, Machado RZ, Tinucci-Costa M. 2012. Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. *Veterinary Parasitology*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 186: 254-260. doi:10.1016/j.vetpar.2011.11.011.
- Zintl A, Moutailler S, Stuart P, Paredis L, Dutraive J, Gonzalez E, O'Connor J, Devillers E, Good B, OMuireagain C, De Waal T, Morris F, Gray J. 2017. Ticks and Tick-borne diseases in Ireland. *Irish Veterinary Journal*, [fecha de acceso marzo 27, 2019]; 70: (4). doi:10.1186/s13620-017-0084-y.