



## CIENCIAS AGRARIAS Y DE LA PESCA

Artículo original de investigación

# Primera evidencia molecular de especies de micoplasmas hemotrópicos (*Mycoplasma* spp.) en animales de importancia económica y social en Cuba

Belkis Corona González <sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2302-5361>  
Adrian Alberto Díaz Sánchez <sup>1,2</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7743-7794>  
Lisset Roblejo Arias <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3246-1026>  
Evelyn Lobo Rivero <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8103-4821>  
Regina Hofmann Lehmann <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9750-4296>  
Marina Luisa Meli <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3609-2416>  
Osvaldo Fonseca Rodríguez <sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0253-5928>  
Ernesto Vega Cañizares <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6137-3837>  
Dasiel Obregón Álvarez <sup>5</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5786-1114>  
Roxana Marrero Perera <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0864-8034>  
Eliany Rodríguez Mirabal <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1502-9191>

<sup>1</sup> Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Mayabeque, Cuba

<sup>2</sup> Departamento de Biología, Universidad de Saskatchewan, Saskatchewan, Canadá

<sup>3</sup> Laboratorio Clínico, Departamento de Diagnóstico Clínico y Servicios, Centro para estudios Clínicos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zurich, Zurich, Suiza

<sup>4</sup> Departamento de Epidemiología y Salud Global, Universidad de Umea, Umea, Suecia

<sup>5</sup> Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de la Habana, Mayabeque, Cuba

\*Autor para la correspondencia: bcorona@censa.edu.cu

### RESUMEN

#### Revisores <sup>a</sup>

#### Editor

Lisset González Navarro  
Academia de Ciencias de Cuba. La  
Habana, Cuba

#### Traductor

Darwin A. Arduengo García  
Academia de Ciencias de Cuba. La  
Habana, Cuba

a N. del E: En este apartado figuran los nombres de los árbitros que accedieron a revelar su identidad, como expresión de apertura progresiva del proceso de revisión por pares. No aparecen aquellos que optaron por el anonimato.

**Introducción:** Los micoplasmas hemotrópicos se encuentran ampliamente distribuidos en varias regiones del mundo. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia de especies de micoplasmas hemotrópicos en bovinos, bufalinos, perros y garrapatas de Cuba. **Métodos:** Se analizaron 39 muestras de sangre de búfalos y 41 bovinos para investigar la presencia de *Mycoplasma wenyonii* y 'Candidatus *Mycoplasma haemobos*'; 391 muestras de sangre de perros y 247 pools de garrapatas para detectar la presencia de *Mycoplasma haemocanis* y 'Candidatus *Mycoplasma haematoparvum*' mediante ensayos de PCR en tiempo real TaqMan® (especie específicos). **Resultados:** Para *M. wenyonii* 53 animales fueron positivos y 33 para 'Ca. *Mycoplasma haemobos*'; en coinfección con *M. wenyonii*, con prevalencias similares en bovinos y bufalinos. El 17,9 % de las muestras de perros fueron positivas para al menos una especie de hemoplasma, con el 15,1 % positivo para *M. haemocanis*, el 4,4 % para 'Ca. *Mycoplasma haematoparvum*', y el 1,5 % coinfectados. Las garrapatas se identificaron como *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*; y ninguno de los pools fue positivo a las especies de micoplasmas caninos en estudio. Se demostró la presencia de 5 haplotipos diferentes para *M. haemocanis* y 4 haplotipos para 'Ca. *M. haematoparvum*'; uno de estos haplotipos mostró 100 % de identidad con un aislado de Granada, que se asoció con casos de exposición zoonótica. Conclusiones: Estos resultados constituyen la primera evidencia

molecular de la infección por especies de hemoplasmas en bovinos y bufalinos de Cuba y el Caribe y el primer reporte molecular de la ocurrencia de infecciones simples y coinfecciones causadas por *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' en perros de Cuba. Por primera vez se evidencia la circulación de un genotipo de 'Ca. *M. haematoparvum*' con potencial zoonótico, común entre las Antillas mayores y menores del Caribe.

**Palabras clave:** micoplasmas hemotrópicos; bovinos; bufalinos; perros; PCR en tiempo real

## First molecular evidence of hemotropic mycoplasma species (*Mycoplasma* spp.) in animals of economic and social importance in Cuba

### ABSTRACT

**Introduction:** Hemotropic mycoplasmas are widely distributed in several regions of the world. The aim of the present work was to determine the presence of hemotropic mycoplasma species in cattle, buffaloes, dogs and ticks in Cuba. **Methods:** They were analyzed thirty-nine buffalo and 41 cattle blood samples to investigate the presence of *Mycoplasma wenyonii* and 'Candidatus Mycoplasma haemobos'. They were analyzed and 391 dog blood samples and 247 tick pools to detect the presence of *Mycoplasma haemocanis* and 'Candidatus Mycoplasma haematoparvum'. In all cases it was used the species-specific TaqMan® real-time PCR assay. **Results:** For *M. wenyonii* 53 animals were positive and 33 for 'Ca. Mycoplasma haemobos'; in coinfection with *M. wenyonii*, with similar prevalence in cattle and buffalo. 17.9% of dog samples were positive for at least one hemoplasma species, with 15.1% positive for *M. haemocanis*, 4.4% for 'Ca. Mycoplasma haematoparvum', and 1.5% co-infected. The ticks were identified as *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato; none of the pools were positive for the canine mycoplasma species under study. It was demonstrated the presence of five different haplotypes for *M. haemocanis* and four haplotypes for 'Ca. *M. haematoparvum*'; one of these haplotypes showed 100 % identity with one isolated from Grenada, which was associated with cases of zoonotic exposure. **Conclusions.** These results constitute the first molecular evidence of infection by hemoplasma species in cattle and buffaloes in Cuba and the Caribbean and the first molecular report of the occurrence of single infections and co-infections caused by *M. haemocanis* and 'Ca. *M. haematoparvum*' in dogs in Cuba. For the first time is evident the circulation of a genotype of 'Ca. *M. haematoparvum*' with zoonotic potential, common between the Greater and Lesser Antilles of the Caribbean.

**Key words:** hemotropic mycoplasmas; cattle; buffalo; dogs; real-time PCR.

## INTRODUCCIÓN

Los micoplasmas o hemoplasmas hemotrópicos son bacterias que causan anemia infecciosa en varias especies de mamíferos, incluidos los humanos. <sup>(1,2)</sup> En el ganado bovino se han identificado 2 especies: *Mycoplasma wenyonii* <sup>(3)</sup> y 'Candidatus Mycoplasma haemobos' <sup>(4,5)</sup> y en los perros. *Mycoplasma haemocanis* y 'Candidatus Mycoplasma haematoparvum' son los agentes causales de la hemoplasmosis canina. Los signos clínicos son inespecíficos e incluyen membranas mucosas pálidas, pérdida de peso, apatía, anorexia y fiebre. <sup>(6)</sup>

En Cuba *M. wenyonii* se reportó por primera vez en ganado bovino por Pino *et al.*, <sup>(7)</sup> quienes inocularon terneros esple-

nectomizados con el agente y determinaron que la anemia podía ser inducida en condiciones experimentales; sin embargo, no se pudo asegurar que *M. wenyonii* fuera la especie realmente detectada. <sup>(8)</sup>

La bacteria *Ca. M. haemobos* se informó por primera vez, más recientemente, utilizando métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y técnicas de secuenciación de ADN en bovinos de varios países del mundo, incluido el continente americano. <sup>(4)</sup> En el Caribe insular la presencia de *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' se reportó en perros de Trinidad y Tobago, aunque la información disponible sobre el estado de estas entidades en la región es

escasa e insuficiente. <sup>(9)</sup> En Cuba no se tiene la confirmación molecular de la presencia de estos hemoplasmas en perros. El objetivo del presente estudio fue investigar la presencia de especies de hemoplasmas en bovinos, búfalos, garrapatas y perros de Cuba mediante ensayos de PCR en tiempo real y análisis de secuencia.

## MÉTODOS

### Primera evidencia molecular de especies de micoplasmas hemotrópicos (*Mycoplasma spp.*) en ganado bovino y bufalino de Cuba

#### Recolección de muestras de sangre y garrapatas

Se colectaron 80 muestras de sangre de 2 rebaños de ganado bovino (*Bos taurus*) y de 2 rebaños de búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) de 4 granjas de la provincia Mayabeque, Cuba. Para todos los animales se recogieron muestras de sangre utilizando tubos de recolección al vacío de 10 mL que contienen EDTA. El ADN se extrajo usando el juego de reactivos DNeasy Blood and Tissue DNA Purification Kit (Qiagen, Valencia, CA, EE. UU.). La concentración y pureza del ADN se determinaron utilizando un espectrofotómetro de microvolumen Colibri (Titertek-Berthold, Pforzheim, Alemania).

Se recolectaron garrapatas adultas de diferentes partes del cuerpo de cada animal, se conservaron en etanol (70 %) y se identificaron según la clave taxonómica descrita por Barros-Battesti *et al.* <sup>(10)</sup>

#### Ensayos de PCR en tiempo real

La presencia de *M. wenyonii* y *Ca. M. haemobos* se detectó utilizando ensayos de PCR en tiempo real especie específico basados en sondas TaqMan, previamente descritos por Meli *et al.*, <sup>(11)</sup> a partir del gen ARNr 16S.

La presencia de ADN amplificable y la ausencia de inhibidores del PCR se confirmaron mediante la amplificación de un fragmento del gen gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa bovina (GAPDH). <sup>(12)</sup>

#### Secuenciación y análisis filogenético del gen ARNr 16S

Se amplificaron los genes ARNr 16S de muestras positivas a *M. wenyonii* y *Ca. M. haemobos*. Los productos de PCR se purificaron con el juego de reactivos de extracción de gel QIAquick (Qiagen), y se sometieron a secuenciación directa (Microsynth, Balgach, Suiza). Las secuencias se identificaron comprobando la secuencia especificada contra las secuencias existentes utilizando el programa BLASTn. Para el análisis evolutivo filogenético y molecular, las secuencias se alinearon con secuencias de hemoplasma depositadas

en el GenBank usando ClustalW <sup>(13)</sup> y se ajustaron manualmente cuando fue necesario. Se infirió un árbol filogenético para determinar la relación de las especies de hemoplasmas bovinos detectadas para conocer las especies de hemoplasma. El árbol fue creado por el método de Neighbor-Joining <sup>(14)</sup> usando una matriz de distancia corregida por sustituciones de nucleótidos basadas en el modelo de 3 parámetros de Tamura con un análisis de *bootstrap* de 1000 repeticiones. Los análisis evolutivos filogenéticos y moleculares se realizaron utilizando MEGA v.7.0.14. <sup>(15)</sup>

#### Análisis estadístico

La asociación entre muestras positivas a *M. wenyonii* y '*Ca. M. haemobos*' mediante PCR y variables como la edad y la presencia de garrapatas, se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher. Las tasas de prevalencia se calcularon con intervalos de confianza (IC) del 95 %. La edad de los animales se analizó como una variable categórica con animales clasificados como menor e igual a 1 año y mayor que 1 año y menor que 3 años. Además, las variables cuantitativas, se analizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney. Los análisis estadísticos se realizaron con el *software* Jamovi 0.8.1.10. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si  $p < 0,05$ .

#### Números de acceso de las secuencias de nucleótidos

Las secuencias de nucleótidos se depositaron en la base de datos GenBank con los números de acceso MG948624, MG948626, MG948628 y MG948631.

### Primera evidencia molecular de *Mycoplasma haemocanis* y '*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*' en perros de La Habana

#### Área de estudio

El estudio se realizó en 11 municipios pertenecientes a la provincia La Habana, que se seleccionaron teniendo en cuenta la posibilidad para contactar los dueños durante la realización de campañas de esterilización y la presencia de animales en el Centro para el Control de zoonosis en La Habana.

#### Colecta de sangre y garrapatas

Se colectaron muestras de sangre de 391 perros (*Canis lupus familiaris*): 183 perros vagabundos y 208 perros con dueño. Las muestras se extrajeron asépticamente mediante punción de la vena yugular, utilizando sistema de vacío (BD Vacutainer®) con 7,2 mg de EDTA K2 como anticoagulante. De cada animal infestado se colectó la mayor cantidad posible de garrapatas. Las garrapatas se preservaron en etanol

al 70 %. La identificación taxonómica se realizó según las claves descritas por Estrada-Peña *et al.* <sup>(16)</sup>

## Extracción del ADN de muestras de sangre y garrapatas

La extracción del ADN se realizó con el juego de reactivos *Genomic DNA Purification Kit* (Promega, Madison, EE. UU.). Las garrapatas adultas se procesaron en mezclas de hasta 10 especímenes por animal y el ADN se extrajo mediante lisis mecánica de las mezclas de garrapatas usando el equipo MagNA Lyser Instrument™ (Roche Molecular Diagnostics, Rotkreuz, Suiza) y el juego de reactivos *Genomic DNA Purification Kit* (Promega, Madison, EE. UU.).

## PCR en tiempo real

Se realizaron ensayos de PCR en tiempo real con sondas TaqMan® para detectar la presencia del gen *gapdh* (gliceraldehído-3-fosfato-hidrogenasa), <sup>(17)</sup> en las muestras de perros y el gen mitocondrial ARNr 18S en las muestras de garrapatas. La presencia de ADN amplificable se determinó como suficiente cuando el número de ciclos necesarios para alcanzar el umbral de detección Ct (ciclo umbral, por sus siglas en inglés *threshold cycle*) fue inferior a 25.

La detección de *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' se realizó mediante ensayos de PCR en tiempo real con sondas TaqMan® especie específicas diseñadas para hibridar con un segmento del gen ARNr 16S de *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*'. <sup>(18)</sup> Se usó agua libre de nucleasas como control negativo de la reacción y como control positivo 5 µl de ADN sintético generado mediante la tecnología GeneArt® (ThermoFisher Scientific, Regensburg, Alemania), que contiene un fragmento del gen ARNr 16S.

## Secuenciación y análisis de los fragmentos amplificados

Para confirmar los resultados obtenidos en los ensayos de PCR en tiempo real se seleccionaron al azar muestras positivas a *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' y se emplearon ensayos de PCR en punto final con los cebadores descritos por Wengi *et al.* <sup>(19)</sup> Los productos amplificados con la talla esperada se purificaron con el juego de reactivos *QIAquick® PCR Purification Kit* (QIAGEN®, Valencia, CA, EE. UU.). Los amplicones purificados se enviaron a Microsynth AG (Balgach, Suiza) para su secuenciación de forma directa por el método Sanger, con los mismos cebadores utilizados para la amplificación de los fragmentos del gen ARNr 16S.

Las secuencias del gen ARNr 16S obtenidas para *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' se depositaron en la base de datos GenBank con los números de acceso MZ221166-MZ221174 y MZ221175-MZ221181, respectivamente.

## Análisis filogenético

El análisis filogenético se realizó basado en las secuencias obtenidas del gen ARNr 16S, empleando el algoritmo ClustalW con el programa MAFFT versión v.7. <sup>(20)</sup> El método de máxima verosimilitud se seleccionó para construir el árbol filogenético con la mejor topología posible, y las matrices de distancia para las secuencias alineadas se calcularon por el modelo paramétrico Tamura-3, <sup>(21)</sup> que mostró los valores mínimos de cAIC y BIC. La secuencia del gen ARNr 16S de *Mycoplasma pneumoniae* (AF132740) se utilizó como outgroup. La representación gráfica y edición del árbol filogenético se realizó con el programa TreeDyn versión v.198.3.

## Análisis epidemiológico

Para el análisis epidemiológico las muestras de perros se clasificaron según su origen (perros con dueños y perros vagabundos). En el caso de los perros con dueño se aplicó un cuestionario semiestructurado, donde se recogió información sobre el sexo, la edad, la definición racial; la infestación por garrapatas; la convivencia con otras especies animales y el tratamiento acaricida. Ninguno de los perros muestreados tenía antecedentes de viajes fuera de Cuba, ni estaba esplenectomizado.

## Análisis estadístico

Se confeccionó una base de datos en Microsoft® Excel 2019 (Microsoft Corporation, Redmond, WA). Se procedió al cálculo de frecuencia de presentación para *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' con un IC de 95 %. La prueba exacta de Fisher se empleó para determinar diferencias significativas entre las frecuencias de presentación de *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*'.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el lenguaje de programación R versión 4.0.2 (R Core Team, 2021), conjuntamente con los paquetes prevalence versión 0.4.0 para cálculos de prevalencia y sjstats versión 0.17.5 para realizar la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

## RESULTADOS

En las 80 muestras el ADN extraído estaba libre de inhibidores, según lo determinado por el PCR GAPDH (valor de Ct < 22). En general 53 de los 80 animales evaluados (66,2 %; IC 95 %: 55,3 %-75,7 %) fueron PCR positivos para hemoplasmas bovinos. Los 53 animales fueron positivos para *M. wenyonii* (66,2 %; IC 95 %: 55,3 %-75,7 %) y 33 de los 80 fueron positivos para *Ca. M. haemobos* (41,2 %; IC 95 %: 31,1%-52,2 %).

De los animales PCR-positivos 33 estaban coinfectados con *M. wenyonii* y 'Ca. *M. haemobos*'; 20 fueron positivos sólo para *M. wenyonii* y ninguno de estos animales fue positivo

solo para 'Ca. M. haemobos'. Entre los 41 bovinos, 26 (63,4 %; IC 95 %: 48,0 %-76,4 %) y 18 (43,9 %; IC 95 %: 29,8 %-59,0 %) animales mostraron resultados positivos para *M. wenyonii* y 'Ca. M. haemobos', respectivamente. Se detectaron coinfecciones en 18 de los 41 bovinos (43,9%; IC 95 %: 29,8-59,0 %); 8 dieron positivos solo para *M. wenyonii* y ninguno fue positivo solo para 'Ca. M. haemobos'. De los 39 búfalos, 27 (69,2 %; IC 95 %: 53,5%-81,4 %) y 15 (38,5 %; IC 95 %: 24,9 %-54,2 %) animales mostraron resultados positivos para *M. wenyonii* y 'Ca. M. haemobos' respectivamente.

Se detectaron coinfecciones en 15 de las 39 (38,5 %; IC 95 %: 24,9 %-54,2 %) muestras de búfalo, 12 resultaron positivas solo para *M. wenyonii* y ninguna fue positiva solo para 'Ca. M. haemobos'. No hubo diferencias significativas en la prevalencia total de hemoplasma o en el porcentaje de muestras positivas simples o coinfectadas en bovinos en comparación con los búfalos.

Los animales que tenían 1 año de edad o más se infectaron significativamente más frecuentemente con *M. wenyonii* o 'Ca. M. haemobos' en comparación con animales de menos de 1 año de edad (prueba exacta de Fisher,  $P < 0,05$ ); tanto en el ganado bovino como en el bufalino. No hubo asociación entre el sexo de los animales y la prevalencia de especies de hemoplasmas bovino (datos no mostrados).

Los búfalos sin infestación por garrapatas se infectaron significativamente más frecuentemente con 'Ca. M. haemobos' que los búfalo con garrapatas (prueba exacta de Fisher,  $P < 0,0001$ ).

Fueron 99 % idénticas entre sí 2 secuencias del gen ARNr 16S designadas como BovMw31 y BufMw03 (GenBank: MG948624 y MG948626, respectivamente) y exhibieron > 99 % de identidad con la cepa Massachusetts de *M. wenyonii* (GenBank: CP003703). Las otras 2 secuencias (BovCMhbos61 y BufCMhbos01) (GenBank: MG948628 y MG948631, respectivamente) fueron 99 % idénticas entre sí y exhibieron > 99 % de identidad con los clones 307 y 311 de 'Ca. M. haemobos' derivados de vacas infectadas en Suiza.

El árbol filogenético basado en las secuencias del gen ARNr 16S confirmó la estrecha relación evolutiva entre los aislados cubanos de *M. wenyonii* (BovMw31 y BufMw03) y otros aislados de China y EE. UU. Los aislados cubanos de 'Ca. M. haemobos' (BovCMhbos61 y BufCMhbos01) se agruparon con aislados reportados de China, Japón, Alemania y Suiza, que formaron un grupo separado de los aislados de *M. wenyonii*, junto con *M. haemocanis* y *M. haemofelis* como fue descrito con anterioridad.<sup>(11)</sup>

Se examinaron 391 perros [151/391 (38,6 1%) hembras y 160/391 (40,10 %) machos]; no fue posible obtener la información referente al sexo de 80 de los 391 (20,46 %) perros, por lo que se categorizaron como animales de sexo descono-

cido; 55 de los 391 (14,06 %) perros tenían edades comprendidas entre 0 años y 1,5 años; 121 de los 391 (30,94 %) perros estaban entre 1,5 años y 7 años; 28/391 (7,16 %) canes resultaron ser mayores de 7 años; 187 de los 391 (47,82 %) perros tenían edad desconocida (183 perros vagabundos y 4 perros con dueño. A la exploración clínica 110 de los 391 (28,13 %) canes se encontraron infestados por garrapatas de diferente sexo y estadio de desarrollo.

### Clasificación taxonómica de las garrapatas colectadas

A la exploración clínica se encontró que 110 de los 391 perros (28,13 %) estaban infestados con garrapatas. Se colectaron un total de 780 garrapatas (363 hembras, 396 machos y 21 ninfas). De los perros vagabundos 91 de los 183 se encontraron infestados con garrapatas (667 garrapatas), mientras que 19 de los 208 perros con dueño estaban infestados (113 garrapatas). Todas las garrapatas colectadas se identificaron morfológicamente como *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato.

### Detección molecular de *M. haemocanis* y 'Ca. Mycoplasma haematoparvum'

En todas las muestras de ADN procedentes de sangre de perros y garrapatas se encontró cantidad suficiente de material genético y ausencia de inhibidores para la prueba PCR. La detección molecular con los ensayos de PCR en tiempo real (especie-específicos) basados en el gen ARNr 16S encontró 70 de los 391 (17,9 %) perros positivos, para al menos una especie de hemoplasmas caninos. Se detectó la presencia de *M. haemocanis* en 53 de las 391 (13,55 %) muestras, 'Ca. M. haematoparvum' en 11 de las 391 (2,81 %) muestras y en 6 de las 391 (1,53 %) muestras se encontraron coinfecciones con ambos hemoplasmas caninos. Ninguna de las muestras de garrapatas que se analizaron resultó positiva a la presencia de *M. haemocanis* o 'Ca. M. haematoparvum'.

### Secuenciación de genes y análisis filogenético

Se seleccionaron 16 muestras positivas para la secuenciación de un fragmento aproximado de 1200 pb del gen ARNr 16S, que resultó en la selección de 9 y 7 muestras positivas a *M. haemocanis* y 'Ca. M. haematoparvum', respectivamente. El tamaño de los fragmentos del gen ARNr 16S, una vez empalmadas y editadas las secuencias, fue de 1230 pb y 1253 pb para *M. haemocanis* y 'Ca. M. haematoparvum', respectivamente. El análisis de las secuencias de *M. haemocanis* a través del algoritmo BLAST mostró entre 99,84 % a 100 % de identidad entre las secuencias obtenidas, así como > 99 % de identidad con secuencias del gen ARNr 16S de aislados de referencia de Italia (GQ129119), Japón (AB848714) y los EE. UU

(CP003199) depositados en el GenBank. En el caso de 'Ca. M. haematoparvum' las secuencias obtenidas mostraron entre 99,68 % a 100 % de identidad entre ellas, así como > 99 % de identidad con secuencias de aislados de diferentes regiones del mundo depositadas en el GenBank, que incluyen España (GQ129114), Italia (GQ129112), y los EE. UU (AY383241).

En el presente estudio el análisis de las secuencias obtenidas confirmó en cada caso la detección molecular de *M. haemocanis* y 'Ca. M. haematoparvum' realizado por PCR en tiempo real, ya que corresponden a la talla esperada del fragmento del gen ARNr 16S, y presentan elevados porcentajes de identidad con secuencias de aislados de referencia depositadas en el GenBank. Este hallazgo constituye el primer reporte molecular de la ocurrencia de infecciones causadas por *M. haemocanis* y 'Ca. M. haematoparvum' en perros de Cuba.

El alineamiento de las 9 secuencias del gen ARNr 16S obtenidas para *M. haemocanis* con el aislado de referencia Illinois (CP003199) mostró la presencia de 5 haplotipos diferentes, resultado de la ocurrencia de 6 mutaciones puntuales del tipo transición (2 C>T, 3 G>A) y transversión (1 G>T), localizadas en 4 posiciones nucleotídicas variables. Mientras que al alinear las 7 secuencias obtenidas para 'Ca. M. haematoparvum' con un aislado de referencia de España (GQ129114) se encontró la presencia de 4 haplotipos diferentes, resultado de la ocurrencia de 20 mutaciones puntuales del tipo transición (7 C>T, 11 G>A, 2 T>C), localizadas en 4 posiciones nucleotídicas variables. Durante el análisis de las secuencias génicas ARNr 16S de 'Ca. M. haematoparvum' se encontró que el haplotipo CuPSD151 (MZ221179) mostró 100 % de identidad con un aislado de Granada (KF366443), que se asoció con casos de exposición zoonótica en profesionales de salud veterinaria e individuos con estrecho contacto ocupacional con animales y artrópodos vectores. <sup>(22)</sup> Este hallazgo evidencia la circulación de un genotipo común de 'Ca. M. haematoparvum' con potencial zoonótico entre las Antillas mayores y menores en la región del Caribe. Sin embargo, los resultados deben ser interpretados con cautela y se recomiendan estudios adicionales que permitan la diferenciación de estos aislados, principalmente dirigidos a la caracterización molecular con el empleo de otros marcadores moleculares tales como los genes *rnpB*, *gapA*, y *dnaK*. <sup>(23)</sup>

El árbol filogenético confirma la relación entre las secuencias obtenidas para *M. haemocanis* y 'Ca. M. haematoparvum', cuando se comparan con otras registradas en las bases de datos GenBank. El análisis filogenético de los hemoplasmas caninos basado en el gen ARNr 16S, mostró el agrupamiento de los haplotipos de *M. haemocanis* dentro del clado correspondiente a *Mycoplasma haemofelis*, mientras que los

haplotipos de 'Ca. M. haematoparvum' se agruparon en el clado de 'Candidatus Mycoplasma haemominutum', como se ha descrito previamente por Hicks *et al.* <sup>(23)</sup>

## Análisis de los factores de riesgo asociados a la infección por hemoplasmas

El análisis estadístico mostró una asociación significativa entre las variables origen, raza y presencia de garrapatas con la infección por *Mycoplasma haemocanis* y 'Candidatus Mycoplasma haematoparvum' en perros de La Habana. Resultados similares encontraron Aktas y Ozubek <sup>(24)</sup> quienes realizaron un estudio para evaluar la frecuencia de presentación de estos hemoplasmas caninos en perros aparentemente sanos de 9 provincias de Turquía e identificar los factores de riesgos potenciales asociados a la infección con estos agentes patógenos.

Al analizar el factor raza se encontraron diferencias significativas entre los perros mestizos y perros de raza y la infección con hemoplasmas caninos. La infección con hemoplasmas resultó 1,87 veces superior en perros mestizos que en los perros de raza pura. Resultados similares obtuvieron Novacco *et al.* <sup>(25)</sup> quienes analizaron perros con dueño y perros que se encontraban en perreras, y describieron la raza como factor de riesgo para la infección por hemoplasma, al encontrar que la mayoría de los perros mestizos en su estudio fueron positivos a la infección.

Aunque las vías de transmisión no están claramente definidas, se sospecha que la transmisión de los hemoplasmas caninos se realiza a través de artrópodos vectores como pulgas y garrapatas; sin embargo, el papel real de los ectoparásitos como vectores competentes de *M. haemocanis* y 'Ca. M. haematoparvum' permanece por definir. <sup>(26)</sup> En el presente estudio, aunque ninguna de las muestras de garrapatas que se analizaron fue positiva por PCR a la infección por micoplasmas hemotrópicos, de los 110 animales con infestación por garrapatas, 27 animales (24,55 %) fueron positivos por PCR, resultando significativo la asociación de la infección por hemoplasma y la presencia de garrapatas, como ha sido descrito previamente en estudios publicados de infecciones por hemoplasmas caninos en Brasil <sup>(27)</sup> y España. <sup>(28)</sup>

La única especie de garrapatas que se identificó en el presente estudio fue *R. sanguineus* s.l., la cual es la especie que se describe experimentalmente como el vector para *M. haemocanis*. <sup>(29)</sup> En el área en estudio la importancia de *R. sanguineus* s.l. en la epidemiología de la infección con *M. haemocanis* y 'Ca. M. haematoparvum' permanece incierta, por lo que se necesita realizar otras investigaciones para determinar las rutas de transmisión de los hemoplasmas a perros de Cuba, incluyendo el papel como vector de *R. sanguineus* s.l. y otros artrópodos vectores.

## DISCUSIÓN

El presente estudio proporciona la primera evidencia molecular de la presencia de infecciones por micoplasmas hemotrópicos en ganado bovino y bufalino en Cuba y en la región del Caribe. La infección con *M. wenyonii* fue predominante en ambas especies, mientras que 'Ca. *M. haemobos*' se detectó con menor frecuencia y siempre en coinfección con *M. wenyonii*. Hofmann-Lehmann *et al.* <sup>(5)</sup> fueron los primeros en informar infecciones por hemoplasma en ganado que presentó infecciones concurrentes con otros patógenos transmitidos por vectores, durante un brote de anemia hemolítica mortal en un rebaño de ganado suizo. En un estudio de seguimiento Meli *et al.* <sup>(11)</sup> describieron en el ganado suizo una mayor prevalencia de *M. wenyonii* (63,5 %) en comparación con 'Ca. *M. haemobos*' (49,6 %) y 42,9 % de coinfecciones.

En Brasil las encuestas epidemiológicas realizadas por Giroto *et al.* <sup>(30)</sup> y Witter *et al.* <sup>(3)</sup> informaron tasas de prevalencia de 'Ca. *M. haemobos*' en ganado lechero de 60,9 % y 64,2 %, respectivamente. Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que estos patógenos están muy extendidos en los rebaños de ganado bovino y bufalino de Cuba, con patrones similares a los de otras regiones del mundo.

Los datos epidemiológicos sobre *M. wenyonii* y 'Ca. *M. haemobos*' en la región del Caribe son escasos o inexistentes, con solo unos pocos estudios en Cuba realizados hace casi 30 años. Una situación similar se encuentra en el continente americano, donde algunos estudios realizados en el norte y sur de Brasil reportan tasas de infección similares a las de Europa y Asia. <sup>(30-32)</sup>

En el presente estudio el ganado bovino y bufalino que tenían 1 año o más, mostraron un mayor riesgo de infección por hemoplasma bovino que los menores de 1 año. De acuerdo con estos resultados, Tagawa *et al.* <sup>(33)</sup> informaron una mayor prevalencia de infecciones por *M. wenyonii* en ganado japonés de 1 año a 3 años en comparación con animales más jóvenes.

En el presente estudio ambas especies se encontraron infestadas con garrapatas *R. microplus* s.l., aunque se encontró una mayor prevalencia y nivel de infestación en el bovino que en el búfalo. Sajid *et al.* <sup>(34)</sup> describieron que la mayor susceptibilidad del huésped a la infestación por garrapatas encontrada en el bovino se debe a la piel más delgada y su hábitat seco en comparación con la piel más gruesa y los hábitats pantanosos del búfalo.

Teniendo en cuenta que la única especie de garrapata identificada en el presente estudio fue *R. microplus*, que se distribuye ampliamente en Cuba, y la resistencia del búfalo a la infestación por garrapatas, consideramos que otros vectores o modos de transmisión podrían estar involucrados en la

aparición de *M. wenyonii* y Ca. *M. haemobos* en la región estudiada; sin embargo, esta observación necesita más investigación. El presente estudio constituye la primera evidencia molecular de infecciones por *M. wenyonii* y Ca. *M. haemobos* en ganado bovino y bufalino de Cuba y en la región del Caribe. Estos resultados indican una amplia distribución de infecciones por hemoplasma bovino en ganado bovino lechero y rebaños de búfalos en la región estudiada. Los resultados proporcionan nueva información sobre la biodiversidad de los patógenos transmitidos por vectores en el ganado lechero y la población de búfalos en Cuba.

Por otra parte, el presente estudio proporciona la primera evidencia molecular de infecciones por *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' en perros de Cuba. La frecuencia de presentación encontrada es similar a las frecuencias descritas en estudios previos realizados en diferentes regiones geográficas del mundo. Kenny *et al.*, <sup>(35)</sup> en el sur de Francia, identificaron 71 (15,4 %) de los 460 perros infectados con hemoplasmas. Asimismo, Roura *et al.* <sup>(28)</sup> obtuvieron una frecuencia de presentación de la infección por hemoplasmas caninos de 14,3 % (26/182) en España. En esta investigación se encontró la presencia de *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' en 59 (15,09 %) y 17 (4,35 %) de las muestras de perros respectivamente.

Los análisis filogenéticos de las especies *M. haemocanis* y 'Ca. *M. haematoparvum*' de Cuba basados en los genes del ARNr 16S revelaron una baja variabilidad genética entre los aislados. Además, se encontró una alta identidad genética cuando los hemoplasmas caninos de Cuba se compararon con los de todo el mundo. Esto último impidió determinar el origen geográfico de los nuevos aislados reportados. El árbol filogenético mostró que los aislados de hemoplasma canino aquí descritos se agrupan en 2 clados distintos con especies de hemoplasma estrechamente relacionadas, incluyendo un clado que comprende *M. haemocanis* y *Mycoplasma haemofelis*, mientras que el otro formado por 'Ca. *M. haematoparvum*' y 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*'.

Curiosamente el análisis de la secuencia del 'Ca. *M. haematoparvum*' de longitud casi completa del gen 16S rRNA reveló que uno de los haplotipos derivados de este estudio era 100 % (MZ221179) idéntico a un haplotipo aislado de un paciente humano en Granada (KF366443), que se asoció a la exposición de profesionales veterinarios debido al contacto estrecho con artrópodos vectores y animales. <sup>(22)</sup> Este hallazgo en Cuba y las islas caribeñas vecinas sugiere la necesidad de conocer sobre el potencial riesgo zoonótico de 'Ca. *M. haematoparvum*', ya que los perros de compañía están en estrecho contacto con los humanos, por lo que recomendamos que se realicen más estudios filogenéticos, basándose en el

gen de la RNasa P (rnpB) y en los genes no ribosomales como gapA y dnaK.

En esta investigación, la infección por hemoplasmas fue significativamente más alta en los perros vagabundos que en los perros con dueño, lo que coincide con estudios previos en Turquía, (36) España (28) y Suiza. (25) El número de perros vagabundos infectados con hemoplasma fue 4,98 veces mayor que los perros con dueño positivos. Este hallazgo es consistente con el hecho de que los perros vagabundos, que deambulan libremente, incrementan el riesgo de exposición a hemoparásitos como los hemoplasmas, ya sea por transmisión directa o a través de artrópodos vectores como las garrapatas. (25)

En concordancia con el análisis de factores de riesgo realizado por Roura *et al.*, (28) en este estudio no se encontró asociación entre la edad, el sexo y la infección por hemoplasmas. A diferencia de los resultados que se obtuvieron en esta investigación, donde no se encontró asociación entre la edad y la positividad a hemoplasmas, en un estudio realizado por Novacco *et al.*, (25) donde analizaron perros de España, Italia y Portugal determinaron que los perros positivos por PCR fueron significativamente más jóvenes que los perros con PCR negativos.

## Conclusiones

El presente estudio constituye la primera evidencia molecular de infecciones por *M. wenyonii* y '*Ca. M. haemobos*' en ganado bovino y bufalino de Cuba y el Caribe y proporciona nueva información sobre la biodiversidad de patógenos transmitidos por vectores en ganado bovino y bufalino en Cuba. Constituyen además la primera evidencia molecular de *M. haemocanis* y '*Ca. M. haematoparvum*' en perros de Cuba y amplía los conocimientos sobre la distribución de las infecciones caninas por hemoplasma e informa, por primera vez, de los factores de riesgo asociados a la aparición de *M. haemocanis* y '*Ca. M. haematoparvum*' en Cuba y la presencia de un haplotipo con potencial zoonótico. A partir de estos resultados se demuestra la necesidad de estudios adicionales para conocer la patogenicidad y la epidemiología de estos hemoplasmas, así como para evaluar el impacto de los mismos en la industria ganadera en Cuba.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Messick JB. Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. *Vet Clin Pathol.* 2004;33:2-13.
2. Maggi RG, Compton SM, Trull CL, Mascarelli PE, Mozayani BR, Breitschwerdt EB. Infection with hemotropic mycoplasma species in patients with or without extensive arthropod or animal contact. *J Clin Microbiol.* 2013;51:3237-41.
3. Adler S, Ellenbogen V. A note on two new blood parasites of cattle, Eperythrozoon and Bartonella. *J Comp Pathol Therapeutics.* 1934;47:219-21.
4. Tagawa M, Matsumoto K, Inokuma H. Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and '*Candidatus Mycoplasma haemobos*' in cattle in Hokkaido. *Japan. Vet Microbiol.* 2008;132:177-80.
5. Hofmann-Lehmann R, Meli ML, Dreher UM, Gonczi E, Deplazes P, Braun U, *et al.* Concurrent infections with vector-borne pathogens associated with fatal hemolytic anemia in a cattle herd in Switzerland. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:3775-80.
6. Baggenstos R, Wenzinger B, Meli ML, Hofmann-Lehmann R, Knubben-Schweizer G. Haemoplasma infection in a dairy cow. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere.* 2012;40:397-400.
7. Pino R, Méndez M. Pathogenic synergism of *Babesia bovis* and *Eperythrozoon wenyoni* infection in cattle in Cuba. *Rev Cubana Cienc Vet.* 1987;18:73-8.
8. Alonso M, Blandino T, Larramendi R. Eperythrozoonosis in splenectomized calves. *Rev Cubana Cienc Vet.* 1987;18:79-81.
9. Gondard M, Cabezas-Cruz A, Charles RA, Vayssier-Taussat M, Albina E, Moutailler S, 2017. Ticks and tick-borne pathogens of the Caribbean: Current understanding and future directions for more comprehensive surveillance. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00490>
10. Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. Carrapatos de importância medicoveterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo, SP (Brazil): ICTTD-3/ Instituto Butantan; 2006.
11. Meli ML, Willi B, Dreher UM, Cattori V, Knubben-Schweizer G, Nuss K, *et al.* Identification, molecular characterization, and occurrence of two bovine hemoplasma species in Swiss cattle and development of real-time TaqMan quantitative PCR assays for diagnosis of bovine hemoplasma infections. *J Clin Microbiol.* 2010;48:3563-8.
12. Leutenegger CM, Alluwaimi AM, Smith WL, Perani L, Cullor JS. Quantitation of bovine cytokine mRNA in milk cells of healthy cattle by real-time TaqMan@polymerase chain reaction. *Vet Immunol Immunop.* 2000;77:275-87.
13. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994;22:4673-80.
14. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 1987;4:406-25.
15. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol.* 2016;33:1870-4.
16. Estrada-Peña A, Bouattour A, Camicas J, Walker A. Tick of domestic animals in Mediterranean region. A guide to identification of species. 2004.
17. Sieber-Ruckstuhl N, Meli M, Boretti F, Gonczi E, Lutz H, Reusch C. Quantitative real-time PCR for the measurement of 11beta-HSD1 and 11beta-HSD2 mRNA levels in tissues of healthy dogs. *Horm. Metab. Res.* 2007;39:548-54.
18. Willi B, Boretti FS, Baumgartner C, Tasker S, Wenger B, Cattori V, Meli ML, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Prevalence, risk factor analysis, and follow-up of infections caused by three feline hemoplasma species in cats in Switzerland.

- J. Clin. Microbiol. 2006;44:961-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.3.961-969.2006>
19. Wengi N, Willi B, Boretti FS, Cattori V, Riond B, Meli ML, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Real-time PCR-based prevalence study, infection follow-up and molecular characterization of canine hemotropic mycoplasmas. *Vet. Microbiol.* 2008; 126: 132-41. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.06.018>
  20. Rosenqvist MB, Meilstrup AKH, Larsen J, Olsen JE, Jensen AL, Thomsen LE. Prevalence of feline haemoplasma in cats in Denmark. *Acta Vet. Scand.* 2016;58. <https://doi.org/10.1186/s13028-016-0260-1>
  21. Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 1993;10:512-26.
  22. Maggi RG, Mascarelli PE, Havenga LN, Naidoo V, Breitschwerdt EB. Co-infection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in a veterinarian. *Parasites and Vectors.* 2013;6.
  23. Hicks C, Barker E, Brady C, Stokes C, Helps C, Tasker S. Non-ribosomal phylogenetic exploration of Mollicute species: new insights into haemoplasma taxonomy. *Infect. Genet. Evol.* 2014;23:99-105.
  24. Aktas M, Ozubek S. A molecular survey of hemoplasmas in domestic dogs from Turkey. *Vet. Microbiol.* 2018;221:94-7. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.06.004>
  25. Novacco M, Meli ML, Gentilini F, Marsilio F, Ceci C, Pennisi MG, *et al.* Prevalence and geographical distribution of canine hemotropic mycoplasma infections in Mediterranean countries and analysis of risk factors for infection. *Vet. Microbiol.* 2010;142:276-84.
  26. Hornok S, Dénes B, Meli ML, Tánzos B, Fekete L, Gyuranecz M, *et al.* Non-pet dogs as sentinels and potential synanthropic reservoirs of tick-borne and zoonotic bacteria. *Vet. Microbiol.* 2013;167:700-3.
  27. Valle S de F, Messick JB, dos Santos AP, Kreutz LC, Duda NCB, Machado G, Corbellini LG, Biondo AW, González FHD. Identification, occurrence and clinical findings of canine hemoplasmas in southern Brazil. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2014;37:259-65.
  28. Roura X, Peters IR, Altet L, Tabar MD, Barker EN, Planellas M, *et al.* Prevalence of hemotropic mycoplasmas in healthy and unhealthy cats and dogs in Spain. 2010.
  29. Seneviratna P, Weeasinghe N, Ariyadasa S. Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Res Vet Sci.* 1973;14:112-4.
  30. Giroto A, Zangirolamo AF, Bogado AL, Souza AS, da Silva GC, Garcia JL, *et al.* Molecular detection and occurrence of '*Candidatus Mycoplasma haemobos*' in dairy cattle of southern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2012;21:342-4.
  31. Witter R, Melo ALT, Pacheco TdA, Meneguzzi M, Boas RV, Dutra V, *et al.* Prevalence of '*Candidatus Mycoplasma haemobos*' detected by PCR, in dairy cattle from Ji-Paraná in the north region of Brazil. *Ciência Rural.* 2017; 47:e20160805.
  32. Santos NJR, Brito DRB, Abate HL, Paixão SF, Soares EDS, Vieira TSWJ, *et al.* Hemotropic mycoplasmas infection in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from northeastern Brazil. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2018;56:27-9.
  33. Tagawa M, Ybanez AP, Matsumoto K, Yokoyama N, Inokuma H. Prevalence and risk factor analysis of bovine hemoplasma infection by direct PCR in eastern Hokkaido, Japan. *J Vet Med Sci.* 2012;74:1171-6.
  34. Sajid MS, Iqbal Z, Khan MN, Muhammad G, Khan MK. Prevalence and associated risk factors for bovine tick infestation in two districts of lower Punjab, Pakistan. *Prev Vet Med.* 2009;92:386-91.
  35. Kenny MJ, Shaw SE, Beugnet F, Tasker S. Demonstration of two distinct hemotropic mycoplasmas in French dogs. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42: 5397-99.
  36. Aktas M, Ozubek S. Molecular survey of haemoplasmas in shelter dogs and associations with *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*. *Med. Vet. Entomol.* 2017;31:457-61.

---

 Recibido: 10/08/2023

 Aprobado: 26/09/2023
 

---

### Agradecimientos

Los autores desean agradecer a Yanet López Dorta, Cristian Díaz Corona, Elianne Piloto Sardiñas Evelio Castellón Madruga, Marcelina Santos Ordaz, Michel Torres González-Chávez, Rafael Grabiél Matos Rodríguez, Yendry Zamora Montalvo, Alberto Alfaro Pérez, Oshin Ley García, Enrique Pérez Pérez, Oscar Fernández Martínez, Kelvin Estrada Porra, por la colaboración brindada para la realización de este trabajo.

### Conflictos de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés entre ellos, ni con la investigación presentada en el presente artículo.

### Contribuciones de los autores

Conceptualización: Adrian A. Díaz Sánchez, Lisett Roblejo Arias, Regina Hofmann Lehmann, Marina L. Meli, Evelyn Lobo-Rivero  
 Curación de datos: Adrian A. Díaz Sánchez, Lisett Roblejo Arias, Osvaldo Fonseca Rodríguez, Regina Hofmann Lehmann, Marina L. Meli, Dasiel Obregón Álvarez  
 Análisis formal: Evelyn Lobo Rivero, Ernesto Vega Cañizares, Roxana Marrero Perera, Elianys Rodríguez Mirabal  
 Adquisición de fondos: Adrian A. Díaz Sánchez, Lisett Roblejo Arias, Belkis Corona González, Regina Hofmann Lehmann  
 Investigación: Adrian A. Díaz Sánchez, Lisett Roblejo Arias, Belkis Corona González, Evelyn Lobo Rivero  
 Metodología: Adrian A. Díaz Sánchez, Belkis Corona González, Lisett Roblejo Arias, Regina Hofmann Lehmann, Marina L. Meli, Evelyn Lobo Rivero  
 Administración del proyecto: Belkis Corona González, Regina Hofmann Lehmann, Marina L. Meli  
 Recursos: Regina Hofmann Lehmann  
**Software:** Osvaldo Fonseca Rodríguez  
 Supervisión: Belkis Corona González, Regina Hofmann Lehmann, Marina L. Meli, Evelyn Lobo Rivero  
 Visualización: Adrian A. Díaz Sánchez, Belkis Corona González, Regina Hofmann Lehmann, Marina L. Meli  
 Redacción-borrador original: Belkis Corona González, Adrian A. Díaz Sánchez, Lisett Roblejo Arias, Evelyn Lobo Rivero  
 Redacción-revisión y edición: Adrian A. Díaz Sánchez, Belkis Corona González, Lisett Roblejo Arias, Regina Hofmann Lehmann, Marina L. Meli, Evelyn Lobo Rivero, Dasiel Obregón Álvarez

### Financiamientos

Adrian Alberto Díaz Sánchez fue beneficiario de una beca de excelencia del Gobierno suizo apoyada por la Comisión Federal de Becas para Estudiantes Extranjeros (FCS) (número de referencia de la beca: 2016.0828). Lisset Roblejo Arias fue beneficiaria de una beca de excelencia del Gobierno suizo apoyada por la Comisión Federal de Becas para Estudiantes Extranjeros (FCS) (número de referencia de la beca: 2019.0666).

### Cómo citar este artículo

Corona González B, Díaz Sánchez AA, Roblejo Arias L, Lobo Rivero E, Hofmann Lehmann R, Meli ML *et al.* Primera evidencia molecular de especies de micoplasmas hemotrópicos (*mycoplasma* spp.)

en animales de importancia económica y social en Cuba. An Acad Cienc Cuba [internet] 2023 [citado en día, mes y año];13(4):e1459. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1459>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2023.

