



Infección por *Mycoplasma bovis* en rebaños bovinos españoles y evaluación de nuevas estrategias de control

Presentamos los resultados del trabajo de investigación¹ sobre este patógeno a través de cinco estudios realizados con los siguientes objetivos: analizar la presencia y circulación de *M. bovis* en rebaño bovino; estudiar la circulación de los diferentes subtipos; examinar su papel en casos de enfermedad respiratoria en terneros de cebo que no responden al tratamiento antibiótico convencional y observar su viabilidad en diferentes fluidos tras tratamientos llevados a cabo en laboratorio.

Ana García-Galán Pérez

Universidad de Murcia

¹Este artículo reproduce la tesis doctoral de Ana García-Galán, galardonada con el primer premio en la 27.ª edición del Premio Syva (2024)

La tesis defendida por esta autora estuvo dirigida por Christian de la Fe Rodríguez, Ángel Gómez Martín y Laurent Xavier Nouvel, Universidad de Murcia, 2022

Mycoplasma bovis es un patógeno importante del ganado bovino que puede producir mamitis, neumonía, artritis, otitis media, queratoconjuntivitis y trastornos reproductivos (figura 1, pág. sig.). Este microorganismo forma parte del complejo respiratorio bovino, que es particularmente importante en terneros alojados en cebaderos. Dada la ausencia de vacunas eficaces en la mayoría de países, la prevención de

la infección depende de prácticas de manejo adecuadas y del uso de tratamientos antibióticos. No obstante, en muchos lugares se ha observado una reducción de la susceptibilidad antibiótica de los aislamientos actuales, además de identificarse cepas de campo con mutaciones asociadas con resistencia.

Estudios previos han demostrado que *M. bovis* está presente en España, donde ha sido detectado de forma

ocasional en hisopos nasales y tejido pulmonar de animales jóvenes con síntomas de enfermedad respiratoria. Sin embargo, estos estudios no brindan información detallada sobre los antecedentes epidemiológicos o las características genéticas de los aislamientos. Comprender la distribución y las características moleculares de los aislamientos en circulación es clave para establecer medidas efectivas de prevención y

► COMPRENDER LA DISTRIBUCIÓN Y LAS CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DE LOS AISLAMIENTOS EN CIRCULACIÓN ES CLAVE PARA ESTABLECER MEDIDAS EFECTIVAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA INFECCIÓN



Figura 1. Detalle de colonias de *M. bovis* vistas al microscopio óptico con la forma típica de huevo frito y formación de películas y cristales

control de la infección. Además, dichos estudios no exploran el papel específico de estos aislamientos en el complejo respiratorio bovino.

La industria de carne bovina en España importa una gran cantidad de animales de Francia, donde actualmente se reportan dos subtipos (STs) predominantes de *M. bovis* (ST2 y ST3) basados en la secuenciación de una región de su gen *polC*. Estos subtipos difieren en su capacidad para desarrollar resistencia a las fluoroquinolonas en condiciones de laboratorio.

Mientras que el ST3 adquiere fácilmente mutaciones en las regiones determinantes de resistencia a quinolonas, haciéndose resistente, el ST2 muestra menor tendencia genética a desarrollar esta resistencia. Además, se ha observado que ambos subtipos presentan resistencia a antibióticos como los macrólidos (tilosina y tilmicosina) y las tetraciclinas (oxitetraciclina). El primer aislamiento multirresistente del ST3 registrado en Francia fue obtenido de un ternero nacido en España y criado

en el sureste de Francia. Sin embargo, se desconoce si estos u otros subtipos están presentes en España, o si su perfil de resistencia antimicrobiana coincide con su tipificación basada en el gen *polC*.

La transferencia cromosómica en micoplasmas es un mecanismo de transferencia genética horizontal que se ha documentado recientemente en condiciones de laboratorio en *M. agalactiae*, un patógeno de pequeños rumiantes filogenéticamente cercano a *M. bovis*. ►

V FERIA PROFESIONAL DE MAQUINARIA, AGRICULTURA Y GANADERÍA



20 - 22 febrero 2025

SILLEDA - GALICIA - ESPAÑA

“Cita referente en innovación agropecuaria”

www.cimag.gandagro.com #cimag25 #gandagro25



FEIRA INTERNACIONAL DE GALICIA ABANCA • E-36540 SILLEDA • Pontevedra • Tel. +34 986 577000 • e-mail: cimag-gandagro@feiragalicia.com

► LA PRINCIPAL VÍA DE ENTRADA DE *M. BOVIS* EN UNA GRANJA O REGIÓN ES LA INTRODUCCIÓN DE ANIMALES PORTADORES ASINTOMÁTICOS



Este proceso consiste en la transmisión de fragmentos de ADN de diverso tamaño desde cualquier parte del genoma donante, que se incorporan en el cromosoma de la célula receptora mediante recombinación homóloga, pudiendo crear una variedad infinita de genomas en mosaico. Para que este mecanismo se produzca, al menos una de las células debe portar en su cromosoma un elemento integrativo conjugativo (ICE) funcional. Los ICE de los micoplasmas son grandes fragmentos cromosómicos (20-30 kb) que autorregulan su escisión, circularización, formación del poro conjugativo y transferencia a través del mismo desde una célula donante (con ICE) a otra receptora (sin ICE), donde se integra en cualquier parte del cromosoma y se replica junto a él. El mecanismo de transferencia cromosómica horizontal se produce en sentido contrario, desde células sin ICE a células con ICE y los ICE son necesarios, ya que la transferencia de los fragmentos cromosómicos se produce a través del poro conjugativo que codifican los ICE. Estudios previos han identificado una amplia distribución de ICE en aislamientos de campo de *M. bovis*, aunque aún no se sabe si este mecanismo se produce en condiciones de campo.

La principal vía de entrada de *M. bovis* en una granja o región es la

introducción de animales portadores asintomáticos. Una vez dentro, los animales infectados pueden eliminar el agente en el calostro, la leche y en secreciones nasales, conjuntivales o genitales, siendo las vías respiratorias y la glándula mamaria los principales reservorios de infección dentro del rebaño. En instalaciones donde no se suelen comprar animales externos, el uso de semen diluido para inseminación artificial podría tener un rol más importante en la transmisión. Esto podría haber sido el caso reciente en Finlandia, donde se relacionó el semen utilizado en inseminación artificial con brotes de mastitis por *M. bovis* en dos granjas lecheras. Otro caso destacable ocurrió en Nueva Zelanda, donde en 2017 se detectó por primera vez la presencia de *M. bovis* en rebaños lecheros, a pesar de que el país no había importado animales vivos en los diez años anteriores. El semen importado fue señalado como una de las posibles vías de entrada en el país. Así, sería importante reevaluar los antibióticos añadidos en los diluyentes de semen, o bien explorar métodos alternativos de control. Entre estos métodos, podría ser de interés el empleo de bacterias ácido-lácticas como los lactobacilos. Las bacterias del género *Lactobacillus* forman parte de la flora vaginal y del tracto gastrointestinal y urinario de

humanos y animales. En medicina humana, se han empleado probióticos a base de *Lactobacillus spp.* para tratar la vaginosis bacteriana por su capacidad de competir por los recursos con las bacterias patógenas, estimular la respuesta inmune del hospedador y producir ácidos orgánicos que reducen el pH. En esta línea, el uso de bacterias del género *Lactobacillus* como agentes competidores y acidificantes del pH podría ser útil para controlar la transmisión de *M. bovis* durante la inseminación artificial mediante dos enfoques: (i) el tratamiento directo de las dosis de semen y (ii) la aplicación de probióticos a base de *Lactobacillus spp.* en el tracto reproductivo de las vacas.

Por todo ello, los objetivos de esta tesis doctoral fueron (1) Analizar la presencia y circulación de *M. bovis* en rebaños bovinos de carne y de leche en España, utilizando una amplia variedad de muestras de distintas fuentes; (2) Estudiar la circulación de diferentes subtipos mediante secuenciación de una región específica del gen *polC*, evaluando variaciones en la susceptibilidad antibiótica entre subtipos y la presencia de mutaciones asociadas a resistencia; (3) Examinar el papel de *M. bovis* en casos de enfermedad respiratoria en terneros de cebo en España que no responden al tratamiento antibiótico, mediante análisis ►

Hablemos



Tras la aparición de los primeros brotes en 2004, la amenaza del virus de la **lengua azul** es constante tanto en España, como en varios países de Europa.

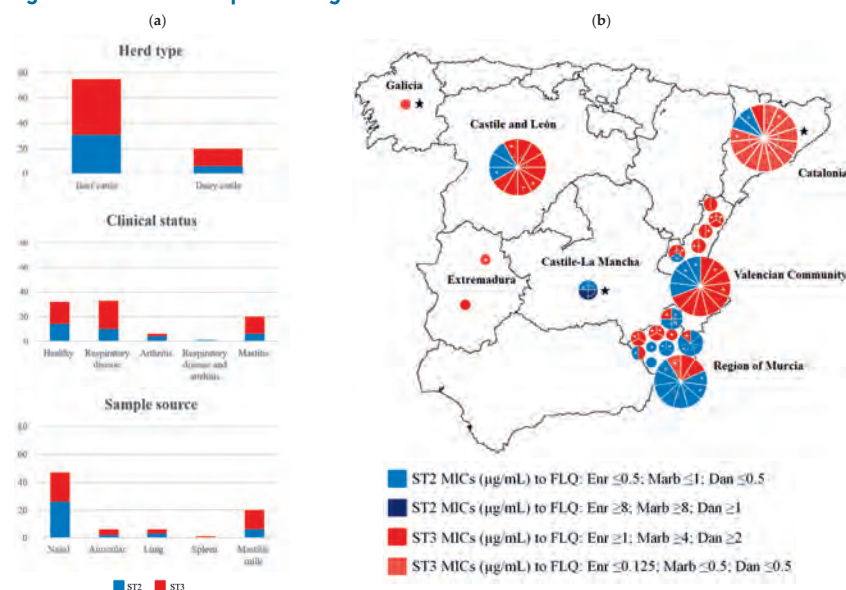
Desde hace más de 20 años, **trabajamos codo con codo** con veterinarios y ganaderos, protegiendo a millones de vacas y ovejas frente al virus BTV.

Nuestra experiencia en la investigación y desarrollo de vacunas nos permite ofrecer **una vacunación con sentido.**



► EL AGENTE FUE DETECTADO PRINCIPALMENTE EN TERNEROS ALOJADOS EN CEBADEROS Y, EN MENOR MEDIDA, EN ANIMALES CRIADOS EN PASTOREO PROCEDENTES DE 26 EXPLOTACIONES DE CINCO REGIONES DE ESPAÑA

Figura 2. Información epidemiológica de los 95 aislamientos de *M. bovis* caracterizados



bacteriológico, histopatológico e inmunohistoquímico, y determinar los valores de concentración mínima inhibitoria de los aislamientos a los antibióticos utilizados para la terapia en campo; (4) Investigar si la transferencia cromosómica de los micoplasmas puede ocurrir en el campo, analizando la presencia de genomas en mosaico en aislamientos de *M. bovis* mediante secuenciación del genoma completo; (5) Analizar la viabilidad de *M. bovis* en semen diluido tras la adición de un antibiótico (enrofloxacino o doxiciclina), o un probiótico a base de *Lactobacillus spp.* en distintas concentraciones, bajo condiciones de laboratorio; (6) Analizar la viabilidad de *M. bovis* en moco cervical tras la adición de un probiótico a base de *Lactobacillus spp.* en distintas concentraciones, bajo condiciones de laboratorio. Estos objetivos se desarrollaron a través de cinco estudios.

El primer trabajo reveló la amplia distribución de *M. bovis* en los rebaños bovinos españoles tras el análisis de 436 muestras procedentes de 260 animales (2016-2019). El agente fue detectado principalmente en terneros alojados en cebaderos y, en menor medida, en animales criados en pastoreo procedentes de 26 explotaciones de cinco regiones de España. *M. bovis* no solo se detectó en animales con enfermedad respiratoria y/o artritis, sino también en portadores asintomáticos. Estos resultados consolidan estudios previos que reportaron el aislamiento

(a) Número de muestras de cada subtipo en función del tipo de rebaño, estatus sanitario y tipo de muestra
(b) Origen geográfico de cada aislamiento. Cada círculo representa una granja, excepto en Cataluña, donde un laboratorio de análisis lechero proporcionó las muestras; el radio de cada círculo es proporcional al número de aislamientos recogidos de la granja; los aislamientos obtenidos de muestras de mamitis se indican con una estrella negra; los aislamientos unidos con una línea gris se obtuvieron del mismo animal; los aislamientos seleccionados para secuenciación del genoma completo se indican con un asterisco blanco; Enr = enrofloxacino; Marb = marbofloxacino; Dan = danofloxacino. CMI (del inglés MIC) = concentración mínima inhibitoria

Fuente: Imagen modificada de García-Galán et al., 2020, Pathogens, 2020, 9, 545

de *M. bovis* en ganado joven con enfermedad respiratoria en España entre los años 2010-2012 y 2015-2016. En conjunto, estos datos sugieren que, al menos entre el ganado de carne, la infección podría haberse vuelto endémica, como se ha observado en otros países europeos. En este sentido, la presencia de portadores asintomáticos y el movimiento de ganado entre explotaciones de carne, que a menudo implica la mezcla de animales de diferentes orígenes, podrían explicar la situación actual en España. Por otro lado, el aislamiento de *M. bovis* en casos clínicos de mamitis fue inusual, dada la baja prevalencia de esta infección en otros países europeos. Por ello, se requieren estudios adicionales para confirmar si esta situación particular refleja un sesgo en el procedimiento de muestreo o indica un aumento significativo en los casos de mamitis asociados con *M. bovis* en España.

El tipaje de 95 aislamientos representativos identificó dos subtipos, ST2 y ST3 (figura 2). Casi dos tercios

de los aislamientos fueron del ST3, lo que contrasta con la situación en Francia, donde el ST2 representa el 80 % de los aislamientos y el ST3 menos del 20 %. Ambos subtipos se detectaron en rebaños de carne y de leche, tanto en animales asintomáticos como con sintomatología respiratoria, artritis o mamitis, y en diferentes localizaciones anatómicas. Los dos subtipos se encontraron distribuidos ampliamente en diferentes granjas y regiones, y además se detectaron conjuntamente dentro de una misma granja o incluso en distintas muestras del mismo animal. Estos hallazgos sugieren, por un lado, la capacidad de diseminación por el organismo de ambos subtipos, así como una eficiente circulación y transmisión de los mismos entre animales y granjas. La evaluación de la concentración mínima inhibitoria de los aislamientos ST2 y ST3 mostró una diferencia significativa en cuanto a la respuesta a las fluoroquinolonas: el ST2 presenta mayor susceptibilidad que el ST3. El análisis genómico detectó mutaciones en

Figura 3. Lesiones histopatológicas avanzadas en el pulmón de un ternero con infección por *M. bovis*: (a) hiperplasia de tejido linfoide asociado al bronquio (asteriscos) y bronquitis (cabecitas de flecha) (hematoxilina-eosina, H-E); (b) abundante exudado mucopurulento en el lumen de un bronquiolito (estrella), fibrosis (asterisco) de la pared junto con infiltrado inflamatorio mononuclear (cabecitas de flecha) y necrosis de la superficie epitelial (flechas) (H-E); (c) foco caseonecrótico extendido (asterisco) con centro eosinofílico delimitado por células inflamatorias, restos de epitelio bronquiolar necrótico y fibrosis (H-E); (d) detalle del foco caseonecrótico (asterisco) con antígeno granular de *M. bovis* predominantemente en la periferia (inmunohistoquímica).

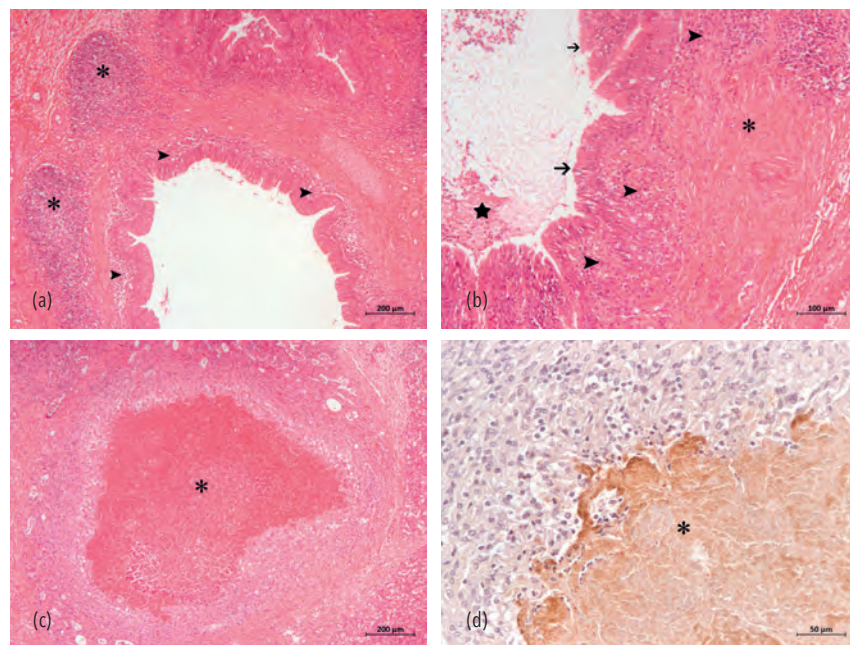


Imagen de García-Galán *et al.*, *Animals*, 2021, 11, 1470

las regiones determinantes de resistencia a quinolonas de los genes *gyrA* y *parC*, exclusivamente en los aislamientos ST3. Esto sugiere que el ST3 tiene una notable capacidad para acumular mutaciones en dichas regiones, lo que podría ser un reflejo de la presión selectiva impuesta por el uso excesivo de estos antibióticos en el campo. Asimismo, los valores de concentración mínima inhibitoria y la identificación de mutaciones mediante el análisis de la secuencia genética revelaron que la mayoría de los aislamientos españoles son resistentes a macrólidos, lincosamidas y tetraciclinas. La valnemulina fue el único antibiótico que demostró eficacia *in vitro* frente a ambos subtipos.

El segundo trabajo examinó 23 terneros de cebo criados en el sureste de España que presentaban signos clínicos de enfermedad respiratoria y no respondían al tratamiento antibiótico (2016-2019). Se investigó la presencia de *M. bovis* mediante

bacteriología (cultivo y subsecuente PCR), histopatología e inmunohistoquímica. Se detectó el patógeno en 86,9 % de los terneros, principalmente en los pulmones, lo que apoya la hipótesis de que la infección podría ser endémica en los cebaderos españoles. La inmunohistoquímica mostró antígenos de *M. bovis* en 73,9 % de los animales, principalmente adheridos a las células epiteliales de las luces de los bronquios y bronquiolos y en la periferia de los focos caseonecróticos. En estos animales, la lesión más común fue la bronconeumonía caseonecrótica, seguida de bronquiolitis e hiperplasia de tejido linfoide asociado al bronquio (figura 3). También se observaron patrones pulmonares asociados a otros virus y bacterias, una variedad esperada dado el carácter multifactorial del complejo respiratorio bovino, en el que participan diversos agentes, y cada uno de los cuales pudiendo dar lugar a lesiones histopatológicas diversas.

Los ensayos de concentración mínima inhibitoria confirmaron la resistencia de la mayoría de aislamientos a casi todos los antibióticos utilizados para el tratamiento de los animales en el campo. Esto podría ser el resultado de resistencia adquirida tras el tratamiento, o a que los aislamientos ya fueran resistentes antes del mismo, como se ha observado en terneros de cebo en Francia.

El tercer trabajo combinó el estudio de árboles filogenéticos y detallados análisis genómicos comparativos de 36 aislamientos de *M. bovis* obtenidos en España (2016-2018). Ello permitió confirmar la naturaleza en mosaico de 16 aislamientos de campo y proporcionó evidencias de que la transferencia cromosómica puede ocurrir en el campo, probablemente durante coinfecciones con múltiples cepas. Aunque desconocemos con qué frecuencia se produce, este fenómeno contribuye a la amplia diversidad y reorganización genómica de *M. bovis* y podría tener un tremendo impacto en el diagnóstico y control de la enfermedad. Por ejemplo, podría reducir el valor epidemiológico de los sistemas de tipaje molecular, ya que la variedad de subtipos descritos en un país, región o granja, podrían no ser solo el resultado de la introducción de nuevas cepas desde el exterior sino resultado de la recombinación entre cepas autóctonas. Por otro lado, la transferencia cromosómica también podría afectar el diagnóstico específico de especie, ya que muchas otras especies de micoplasmas comparten el mismo nicho ecológico con *M. bovis* en el ganado. De hecho, varios estudios sugieren que diferentes especies pueden participar en la transferencia cromosómica. Este fenómeno ha sido documentado en condiciones de laboratorio entre *M. bovis* y *M. agalactiae*, y estudios por ordenador han demostrado que *M. agalactiae* ha intercambiado una gran parte de su genoma con especies de micoplasmas de rumiantes filogenéticamente distantes. Así, al modificar los límites entre especies y cepas, la transferencia cromosómica puede afectar tanto los estudios diagnósticos como los epidemiológicos, lo cual podría comprometer la implementación de estrategias de control efectivas. Además, entre los fragmentos transferidos se encontraron ▶▶

► BAJO LAS CONDICIONES EVALUADAS, LA ADICIÓN DE *LACTOBACILLUS SPP.* DISMINUYE LA VIABILIDAD DE *M. BOVIS* EN EL MOCO CERVICAL, LO QUE SUGIERE QUE PODRÍA SER ÚTIL PARA CONTROLAR LA PROLIFERACIÓN DEL PATÓGENO EL TRACTO CÉRVIKO-VAGINAL DE LAS VACAS



proteínas y lipoproteínas de membrana. Dado que los micoplasmas carecen de pared celular, su membrana está en contacto directo con el huésped, por lo que la modificación, ganancia o pérdida de este tipo de genes puede afectar drásticamente la interacción patógeno-huésped. De igual forma, el tratamiento con antibióticos podría verse afectado si se transfieren genes codificantes de dianas de antibiótico con mutaciones de resistencia desde cepas resistentes a cepas susceptibles. Faucher y colaboradores mostraron que la transferencia cromosómica permitía que cepas de micoplasmas susceptibles adquirieran rápidamente, de poblaciones ya resistentes, múltiples fragmentos cromosómicos con mutaciones de resistencia a fluoroquinolonas. Previamente, observamos que en España todos los aislamientos del ST2 son susceptibles a fluoroquinolonas, mientras que la mayoría de los aislamientos del ST3 han adquirido mutaciones de resistencia a estos antibióticos. Un solo evento de transferencia cromosómica de aislamientos resistentes hacia aislamientos susceptibles, seguido por la expansión y transmisión del genoma mosaico resistente a otros animales, granjas o regiones, podría comprometer definitivamente el tratamiento de infecciones por *M. bovis* con fluoroquinolonas. Indirectamente, el movimiento de animales entre granjas, una práctica común en la industria de ganado de carne en España,

probablemente contribuiría a esta situación al facilitar la mezcla de aislamientos con diferentes susceptibilidades a los antibióticos.

En el cuarto y quinto estudios se evaluaron diferentes estrategias bajo condiciones de laboratorio para reducir el riesgo de transmisión de *M. bovis* a través de tecnologías de inseminación artificial. Por un lado, se probó la viabilidad de *M. bovis* en semen de toro diluido en una solución de Tris-citrato-fructosa, tras la adición de enrofloxacin, doxiciclina o un probiótico a base de *Lactobacillus spp.* Los datos mostraron la susceptibilidad del patógeno a la adición de 0,125 µg/mL de enrofloxacin o 0,0625 µg/mL de doxiciclina y a la adición del probiótico a una concentración de $3,24 \times 10^6$ unidades formadoras de colonias (UFC)/mL o $3,24 \times 10^8$ UFC/mL en el semen diluido. El medio Tris-citrato-fructosa afectó negativamente la viabilidad de *M. bovis*, aunque este efecto fue menor en comparación con el observado tras la adición del probiótico y los antimicrobianos ($p < 0.05$). Por otro lado, se estudió la viabilidad de *M. bovis* en moco cervical tras la adición de *Lactobacillus spp.* La adición del probiótico a una concentración de $3,24 \times 10^8$ UFC/mL mostró un efecto perjudicial ($p < 0.05$) sobre la viabilidad del micoplasma en el moco cervical. Esto coincidió con un crecimiento significativo de bacterias ácido-lácticas y una reducción importante del pH de 8.4 a 5.6 ($p < 0.05$).

Sin embargo, con concentraciones menores de probiótico, la supervivencia de *M. bovis* no se vio afectada. Aunque el efecto observado parece estar relacionado con la disminución del pH tras la proliferación de bacterias ácido-lácticas en el moco cervical, son necesarios más estudios para esclarecer si existen otros factores involucrados. Globalmente, los resultados obtenidos en ambos trabajos podrían respaldar el uso de nuevas estrategias para reducir el riesgo de transmisión de *M. bovis* a través de la inseminación artificial.

Fruto de todos los trabajos que conformaron el trabajo de tesis doctoral, se obtuvieron **seis conclusiones principales**, que se enumeran a continuación:

1. *M. bovis* se encuentra ampliamente distribuido en los rebaños españoles de bovino de carne y está implicado en casos de mastitis en los rebaños de leche.
2. Los aislamientos españoles de *M. bovis* se agrupan en dos subtipos, ST2 y ST3, ambos resistentes a los macrólidos, lincosamidas y tetraciclinas. La mayoría de aislamientos del ST3 son resistentes a las fluoroquinolonas, lo que indica la notable capacidad del ST3 de acumular mutaciones en las regiones determinantes de resistencia a quinolonas y refleja la presión selectiva impuesta por el uso de estos antibióticos en el campo. La valnemulina ha mostrado ser eficaz frente a ambos subtipos *in vitro*. ►

3. *M. bovis* desempeña un rol importante en los casos de enfermedad respiratoria en terneros de cebo en España. La bronconeumonía caseonecrotica es el patrón morfológico más común en los animales infectados, y a menudo coexisten patrones asociados a otras bacterias y virus. Los aislamientos de *M. bovis* recuperados de estos casos clínicos muestran resistencia in vitro a la mayoría de los antibióticos empleados para el tratamiento en campo.
4. La coexistencia de diferentes linajes de *M. bovis* a nivel de rebaño, e incluso a nivel de animal, facilita eventos de transferencia genética horizontal, como la transferencia cromosómica de los micoplasmas. Estos eventos contribuyen a diversidad del genoma y podrían dificultar el diagnóstico y control de la enfermedad.
5. En las condiciones evaluadas, la adición de *Lactobacillus spp.*, enrofloxacin o doxiciclina afecta negativamente a la viabilidad de *M. bovis* en semen diluido, lo que podría ser útil para tratar las dosis seminales y disminuir el riesgo de transmisión de *M. bovis* durante la inseminación artificial. También se observó que diluyente seminal Tris-citrato-fructosa afecta negativamente a la viabilidad del agente, aunque en menor medida que el probiótico y antibióticos.
6. Bajo las condiciones evaluadas, la adición de *Lactobacillus spp.* disminuye la viabilidad de *M. bovis* en moco cervical, lo que sugiere que podría ser útil para controlar la proliferación del patógeno el tracto cérvico-vaginal de las vacas. ■

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Analysis of risk pathways for the introduction of Mycoplasma bovis into New Zealand (N.o 2017/1). (2017). Ministry for Primary Industries. New Zealand Government.

Becker, C. A. M., Ambroset, C., Huleux, A., Vialatte, A., Colin, A., Tricot, A., Arcangioli, M.-A., & Tardy, F. (2020). Monitoring *Mycoplasma bovis* diversity and antimicrobial susceptibility in calf feedlots undergoing a respiratory disease outbreak. *Pathogens*, 9(7), 593. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070593>

Becker, C. A. M., Thibault, F. M., Arcangioli, M.-A., & Tardy, F. (2015). Loss of diversity within *Mycoplasma bovis* isolates collected in France from bovines with respiratory diseases over

the last 35 years. *Infection, Genetics and Evolution*, 33, 118-126. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.04.019>

Caswell, J. L., Bateman, K. G., Cai, H. Y., & Castillo-Alcala, F. (2010). *Mycoplasma bovis* in respiratory disease of feedlot cattle. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 26(2), 365-379. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.003>

Citti, C., Dordet-Frisoni, E., Nouvel, L. X., Kuo, C. H., & Baranowski, E. (2018). Horizontal gene transfers in mycoplasmas (*Mollicutes*). *Current Issues in Molecular Biology*, 29, 3-22. <https://doi.org/10.21775/cimb.029.003>

Deng, Q., Odhiambo, J. F., Farooq, U., Lam, T., Dunn, S. M., & Ametaj, B. N. (2014). Intravaginal lactic acid bacteria modulated local and systemic immune responses and lowered the incidence of uterine infections in periparturient dairy cows. *PloS One*, 10(4), e0124167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124167>

Deng, Q., Odhiambo, J. F., Farooq, U., Lam, T., Dunn, S. M., Gänzle, M. G., & Ametaj, B. N. (2015). Intravaginally administered lactic acid bacteria expedited uterine involution and modulated hormonal profiles of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6018-6028. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8559>

Dordet-Frisoni, E., Faucher, M., Sagné, E., Baranowski, E., Tardy, F., Nouvel, L. X., & Citti, C. (2019). *Mycoplasma* chromosomal transfer: A distributive, conjugative process creating an infinite variety of mosaic genomes. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02441>

Dudek, K., Nicholas, R. A. J., Szacawa, E., & Bednarek, D. (2020). *Mycoplasma bovis* infections—Occurrence, diagnosis and control. *Pathogens*, 9(8), 640. <https://doi.org/10.3390/pathogens9080640>

Faucher, M. (2018). Le transfert horizontal de gènes chez les mycoplasmes: *De l'acquisition de l'antibiorésistance à la dynamique des génomes*. [Phd]. <https://oatao.univ-toulouse.fr/24001/>

Faucher, M., Nouvel, L.-X., Dordet-Frisoni, E., Sagné, E., Baranowski, E., Hygonenq, M.-C., Marendia, M.-S., Tardy, F., & Citti, C. (2019). *Mycoplasmas* under experimental antimicrobial selection: The unpredicted contribution of horizontal chromosomal transfer. *PLOS Genetics*, 15(1), e1007910. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007910>

García-Galán, A. (2022). *Mycoplasma bovis* infection in Spanish cattle herds and evaluation of new control strategies. [Tesis]. <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/126003>

García-Galán, A., Baranowski, E., Hygonenq, M.-C., Walch, M., Croville, G., Citti, C., De la Fe, C., & Nouvel, L.-X. (2022). Genome mosaicism in field strains of *Mycoplasma bovis* as footprints of in-host horizontal chromosomal transfer. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(1), e0166121. <https://doi.org/10.1128/AEM.01661-21>

García-Galán, A., Seva, J., Gómez-Martín, Á., Ortega, J., Rodríguez, F., García-Muñoz, Á., & de la Fe, C. (2021). Importance and antimicrobial resistance of *Mycoplasma bovis* in clinical respira-

tory disease in feedlot calves. *Animals*, 11(5), 1470. <https://doi.org/10.3390/ani11051470>

García-Galán, A., Nouvel, L.-X., Baranowski, E., Gómez-Martín, Á., Sánchez, A., Citti, C., & de la Fe, C. (2020). *Mycoplasma bovis* in Spanish cattle herds: Two groups of multiresistant isolates predominate, with one remaining susceptible to fluoroquinolones. *Pathogens*, 9(7), 545. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070545>

García-Galán, A., De la Fe, C., Gomis, J., Bataller, E., Sánchez, A., Quereda, J. J., García-Roselló, E., & Gómez-Martín, A. (2020). The addition of *Lactobacillus spp.* negatively affects *Mycoplasma bovis* viability in bovine cervical mucus. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 251. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02454-9>

García-Galán, A., Gómez-Martín, Á., Bataller, E., Gomis, J., Sánchez, A., Gadea, J., Vieira, L. A., García-Roselló, E., & De la Fe, C. (2020). The addition of *Lactobacillus spp.*, enrofloxacin or doxycycline negatively affects the viability of *Mycoplasma bovis* in diluted bovine semen. *Animals*, 10(5), 837. <https://doi.org/10.3390/ani10050837>

Gautier-Bouchardon, A. V. (2018). Antimicrobial resistance in *Mycoplasma spp.* *Microbiology Spectrum*, 6(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0030-2018>

Haapala, V., Pohjanvirta, T., Vähänikkilä, N., Halkilahti, J., Simonen, H., Pelkonen, S., Soveri, T., Simojoki, H., & Autio, T. (2018). Semen as a source of *Mycoplasma bovis* mastitis in dairy herds. *Veterinary Microbiology*, 216, 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.vet-mic.2018.02.005>

Khalil, D., Becker, C. A. M., & Tardy, F. (2016). Alterations in the quinolone resistance determining regions and fluoroquinolone resistance in clinical isolates and laboratory-derived mutants of *Mycoplasma bovis*: Not all genotypes may be equal. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(4), 1060-1068. <https://doi.org/10.1128/AEM.03280-15>

Nicholas, R. A. J., & Ayling, R. D. (2003). *Mycoplasma bovis*: Disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*, 74(2), 105-112. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00155-8](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00155-8)

Maunsell, F. P., Woolums, A. R., Francoz, D., Rosenbusch, R. F., Step, D. L., Wilson, D. J., & Janzen, E. D. (2011). *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(4), 772-783. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0750.x>