



Infección por *Mycoplasma bovis* en rabaños bovinos españois e avaliación de novas estratexias de control

Presentamos os resultados do traballo de investigación¹ sobre este patóxeno a través de cinco estudos realizados cos seguintes obxectivos: analizar a presenza e circulación de *M. bovis* en rabaño bovino; estudar a circulación dos diferentes subtipos; examinar o seu papel en casos de enfermidade respiratoria en xatos de ceba que non responden o tratamento antibiótico convencional e observar a súa viabilidade en diferentes fluídos tras tratamentos levados a cabo no laboratorio.

Ana García-Galán Pérez

Universidade de Murcia

¹Este artigo reproduce a tese doutoral de Ana García-Galán, galardoada co primeiro premio na 27.ª edición do Premio Syva (2024). A tese defendida por esta autora estivo dirixida por Christian de la Fe Rodríguez, Ángel Gómez Martín e Laurent Xavier Nouvel, Universidade de Murcia, 2022.

Mycoplasma bovis é un patóxeno importante do gando bovino que pode producir mamite, pneumonía, artrite, otite media, queratoconjuntivite e trastornos reprodutivos (figura 1, páx. seg.). Este microorganismo forma parte do complexo respiratorio bovino, que é particularmente importante en xatos aloxados en cebadeiros. Dada a ausencia de vacinas eficaces na maioría de países, a

prevención da infección depende de prácticas de manexo adecuadas e do uso de tratamentos antibióticos. No entanto, en moitos lugares observouse unha redución da susceptibilidade antibiótica dos illamentos actuais, ademais de identificarse cepas de campo con mutacións asociadas con resistencia.

Estudos previos demostraron que *M. bovis* está presente en España, onde foi detectado de forma ocasional

en hisopos nasais e tecido pulmonar de animais novos con síntomas de enfermidade respiratoria. Con todo, estes estudos non brindan información detallada sobre os antecedentes epidemiolóxicos ou as características xenéticas dos illamentos. Comprender a distribución e as características moleculares dos illamentos en circulación é clave para establecer medidas efectivas de prevención e control da infección.

► COMPRENDER A DISTRIBUCIÓN E AS CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DOS ILLAMENTOS EN CIRCULACIÓN É CLAVE PARA ESTABLECER MEDIDAS EFECTIVAS DE PREVENCIÓN E CONTROL DA INFECCIÓN



Figura 1. Detalle de colonias de *M. bovis* vistas ao microscopio óptico coa forma típica de ovo frito e formación de películas e cristais

Ademais, os devanditos estudos non exploran o papel específico destes illamentos no complexo respiratorio bovino.

A industria de carne bovina en España importa unha gran cantidade de animais de Francia, onde actualmente se reportan dous subtipos (STs) predominantes de *M. bovis* (ST2 e ST3) baseados na secuenciación dunha rexión do seu xene *polC*. Estes subtipos difiren na súa capacidade para desenvolver resistencia ás fluoroquinolonas en condicións de laboratorio.

Mentres que o ST3 adquire facilmente mutacións nas rexións determinantes de resistencia a quinolonas, facéndose resistente, o ST2 mostra menor tendencia xenética a desenvolver esta resistencia. Ademais, observouse que ambos os subtipos presentan resistencia a antibióticos como os macrólidos (tilosina e tilmicosina) e as tetraciclinas (oxitetraciclina). O primeiro illamento multirresistente do ST3 rexistrado en Francia foi obtido dun xato nado en España e cria-

do no sueste de Francia. Con todo, descoñécese se estes ou outros subtipos están presentes en España, ou se o seu perfil de resistencia antimicrobiana coincide coa súa tipificación baseada no xene *polC*.

A transferencia cromosómica en micoplasmas é un mecanismo de transferencia xenética horizontal que se documentou recentemente en condicións de laboratorio en *M. agalactiae*, un patóxeno de pequenos ruminantes filoxeneticamente próximo a *M. bovis*. ►

V FERIA PROFESIONAL DE MAQUINARIA, AGRICULTURA Y GANADERÍA



XUNTA
DE GALICIA



Feira Internacional
de Galicia ABANCA



20 - 22 febrero 2025
SILLEDA - GALICIA - ESPAÑA

“Cita referente en innovación agropecuaria”

www.cimag.gandagro.com #cimac25 #gandagro25



Concello
de
Silleda



Deputación
Pontevedra



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

► A PRINCIPAL VÍA DE ENTRADA DE *M. BOVIS* NUNHA GRANXA OU REXIÓN É A INTRODUCCIÓN DE ANIMAIS PORTADORES ASINTOMÁTICOS



Este proceso consiste na transmisión de fragmentos de ADN de diverso tamaño desde calquera parte do xenoma doante, que se incorporan no cromosoma da célula receptora mediante recombinación homóloga, o que pode crear unha variedade infinita de xenomas en mosaico. Para que este mecanismo se produza, polo menos unha das células debe portar no seu cromosoma un elemento integrativo conxugativo (ICE) funcional. Os ICE dos micoplasmas son grandes fragmentos cromosómicos (20-30 kb) que autorregulan a súa escisión, circularización, formación do poro conxugativo e transferencia a través deste desde unha célula doante (con ICE) a outra receptora (sen ICE), onde se integra en calquera parte do cromosoma e se replica xunto a el. O mecanismo de transferencia cromosómica horizontal prodúcese en sentido contrario, desde células sen ICE ata células con ICE, e os ICE son necesarios, xa que a transferencia dos fragmentos cromosómicos se produce a través do poro conxugativo que codifican os ICE. Estudos previos identificaron unha ampla distribución de ICE en illamentos de campo de *M. bovis*, mais aínda non se sabe se este mecanismo se produce en condicións de campo.

A principal vía de entrada de *M. bovis* nunha granxa ou rexión é a introdución de animais portadores

asintomáticos. Unha vez dentro, os animais infectados poden eliminar o axente no costro, o leite e en secrecións nasais, conxuntivais ou xenitais, sendo as vías respiratorias e a glándula mamaria os principais reservorios de infección dentro do rabaño. En instalacións onde non se adoitan comprar animais externos, o uso de seme diluído para inseminación artificial podería ter un rol máis importante na transmisión. Isto podería ser o caso recente en Finlandia, onde se relacionou o seme utilizado en inseminación artificial con brotes de mamite por *M. bovis* en dúas granxas leiteiras. Outro caso destacable ocorreu en Nova Zelandia, onde en 2017 se detectou por primeira vez a presenza de *M. bovis* en rabaños leiteiros, a pesar de que o país non importara animais vivos no dez anos anteriores. O seme importado foi sinalado coma unha das posibles vías de entrada no país. Así, sería importante reavaliar os antibióticos engadidos nos diluíntes de seme, ou ben explorar métodos alternativos de control. Entre estes métodos, podería ser de interese o emprego de bacterias ácido-lácticas coma os lactobacilos. As bacterias do xénero *Lactobacillus* forman parte da flora vaxinal e do tracto gastrointestinal e urinario de humanos e animais. En medicina humana, empregáronse probióticos a base

de *Lactobacillus spp.* para tratar a vaxinose bacteriana pola súa capacidade de competir polos recursos coas bacterias patoxénicas, estimular a resposta inmune do hospedador e producir ácidos orgánicos que reducen o pH. Nesta liña, o uso de bacterias do xénero *Lactobacillus* coma axentes competidores e acidificantes do pH podería ser útil para controlar a transmisión de *M. bovis* durante a inseminación artificial mediante dous enfoques: (i) o tratamento directo das doses de seme e (ii) a aplicación de probióticos a base de *Lactobacillus spp.* no tracto reprodutivo das vacas.

Por todo iso, os obxectivos desta tese doutoral foron (1) Analizar a presenza e circulación de *M. bovis* en rabaños bovinos de carne e de leite en España, utilizando unha ampla variedade de mostras de distintas fontes; (2) Estudar a circulación de diferentes subtipos mediante secuenciación dunha rexión específica do xene *polC*, avaliando variacións na susceptibilidade antibiótica entre subtipos e a presenza de mutacións asociadas a resistencia; (3) Examinar o papel de *M. bovis* en casos de enfermidade respiratoria en xatos de ceba en España que non responden o tratamento antibiótico, mediante análise bacteriolóxica, histopatolóxica e inmunohistoquímica, e determinar os valores de concentración ►

Hablemos



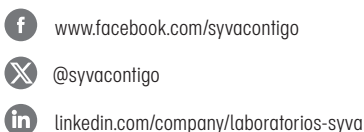
Tras la aparición de los primeros brotes en 2004, la amenaza del virus de la **lengua azul** es constante tanto en España, como en varios países de Europa.

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.**



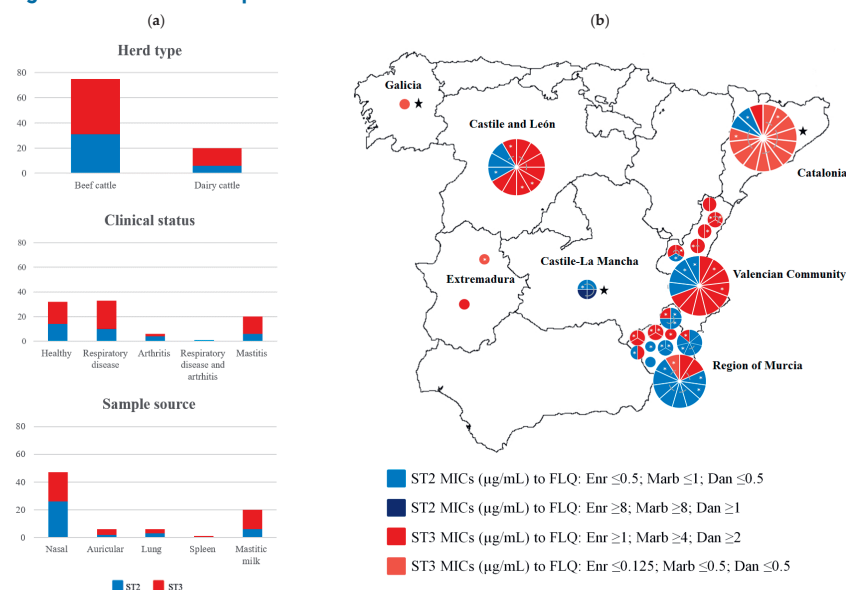
Sede Central: Parque Tecnológico de León
Calle Nicestrato Vela M 20 • 24009 León - España
Tel.: 987 800 800 • e-mail: mail@syva.es • www.syva.es



syva

► O AXENTE FOI DETECTADO PRINCIPALMENTE EN XATOS ALOXADOS EN CEBADEIROS E, EN MENOR MEDIDA, EN ANIMAIS CRIADOS EN PASTOREO PROCEDENTES DE 26 EXPLOTACIÓNS DE CINCO REXIÓNS DE ESPAÑA

Figura 2. Información epidemiolóxica dos 95 illamentos de *M. bovis* caracterizados



mínima inhibitoria dos illamentos aos antibióticos utilizados para a terapia en campo; (4) Investigar se a transferencia cromosómica dos micoplasmas pode ocorrer no campo, analizando a presenza de xenomas en mosaico en illamentos de *M. bovis* mediante secuenciación do xenoma completo; (5) Analizar a viabilidade de *M. bovis* en seme diluído tras a adición dun antibiótico (enrofloxacino ou doxiciclina), ou un probiótico a base de *Lactobacillus* spp. en distintas concentracións, baixo condicións de laboratorio; (6) Analizar a viabilidade de *M. bovis* en moco cervical tras a adición dun probiótico a base de *Lactobacillus* spp. en distintas concentracións, baixo condicións de laboratorio. Estes obxectivos desenvolveronse a través de cinco estudos.

O primeiro traballo revelou a ampla distribución de *M. bovis* nos rabaños bovinos españois tras a análise de 436 mostrase procedentes de 260 animais (2016-2019). O axente foi detectado principalmente en xatos aloxados en cebadeiros e, en menor medida, en animais criados en pastoreo procedentes de 26 explotacións de cinco rexións de España. *M. bovis* non só se detectou en animais con enfermidade respiratoria e/ou artrite, senón tamén en portadores asintomáticos. Estes resultados consolidan estudos previos que reportaron o illamento de *M. bovis* en gando novo con enfermidade respiratoria en España entre os anos 2010-2012 e 2015-2016. En conxunto, estes datos suxiren que, polo menos entre o

(a) Número de mostrase de cada subtipo en función do tipo de rabaño, status sanitario e tipo de mostra
(b) Orixe xeográfica de cada illamento. Cada círculo representa unha granxa, excepto en Cataluña, onde un laboratorio de análise leiteira proporcionou as mostrase; o radio de cada círculo é proporcional ao número de illamentos recollidos da granxa; os illamentos obtidos de mostrase de mamite indícanse cunha estrela negra; os illamentos unidos cunha liña gris obtivéronse do mesmo animal; os illamentos seleccionados para secuenciación do xenoma completo indícanse cun asterisco branco; Enr = enrofloxacino; Marb = marbofloxacino; Dan = danofloxacino. CMI (do inglés MIC) = concentración mínima inhibitoria

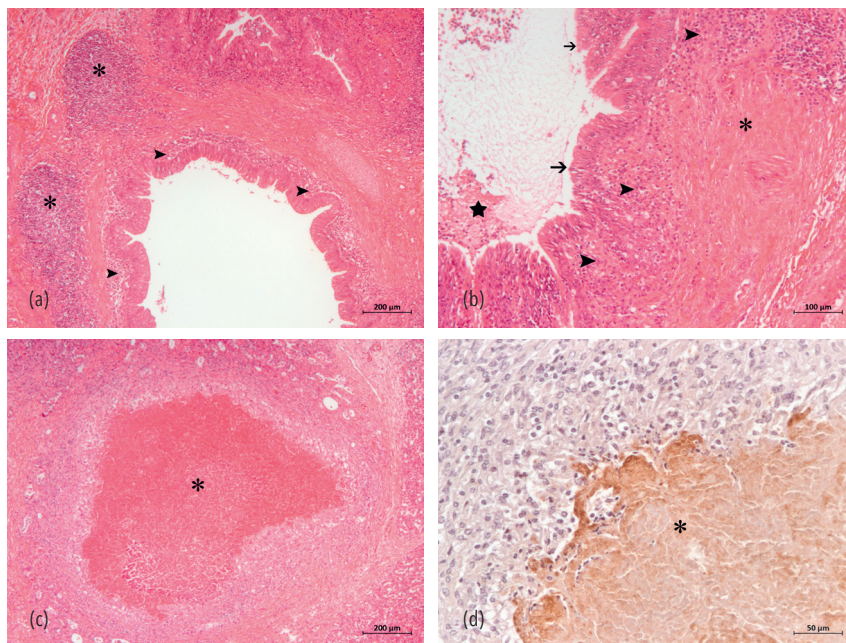
Fonte: Imaxe modificada de García-Galán *et al.*, 2020, Pathogens, 2020, 9, 545

gando de carne, a infección podería volverse endémica, como se observou noutros países europeos. Neste sentido, a presenza de portadores asintomáticos e o movemento de gando entre explotacións de carne, que a miúdo implica a mestura de animais de diferentes orixes, poderían explicar a situación actual en España. Doutra banda, o illamento de *M. bovis* en casos clínicos de mamite foi inusual, dada a baixa prevalencia desta infección noutros países europeos. Por iso, requirense estudos adicionais para confirmar se esta situación particular reflicte un rumbo no procedemento de mostraxe ou indica un aumento significativo nos casos de mamite asociados con *M. bovis* en España.

A tipaxe de 95 illamentos representativos identificou dous subtipos, ST2 e ST3 (figura 2). Case dous terzos dos illamentos foron do ST3, o que contrasta coa situación en Francia, onde o ST2 representa o 80 % dos illamentos e o ST3 menos do 20 %. Ambos os subtipos se detectaron en rabaños de carne e de leite, tanto en

animais asintomáticos, como con sintomatoloxía respiratoria, artrite ou mamite, e en diferentes localizacións anatómicas. Os dous subtipos atopáronse distribuídos amplamente en diferentes granxas e rexións, e, ademais, detectáronse conxuntamente dentro de una mesma granxa ou mesmo en distintas mostrase do mesmo animal. Estes achados suxiren, por unha banda, a capacidade de diseminación polo organismo de ambos os subtipos, así como unha eficiente circulación e transmisión destes entre animais e granxas. A avaliación da concentración mínima inhibitoria dos illamentos ST2 e ST3 mostrou unha diferenza significativa en canto á resposta ás fluoroquinolonas: o ST2 presenta maior susceptibilidade que o ST3. A análise xenómica detectou mutacións nas rexións determinantes de resistencia a quinolonas dos xenes *gyrA* e *parC*, exclusivamente nos illamentos ST3. Isto suxire que o ST3 ten unha notable capacidade para acumular mutacións nas devanditas rexións, o que podería ser un reflexo da presión

Figura 3. Lesións histopatolóxicas avanzadas no pulmón dun xato con infección por *M. bovis*: (a) hiperplasia de tecido linfoide asociado ao bronquio (asteriscos) e bronquite (cabezas de frecha) (hematoxilina-eosina, H-E); (b) abundante exudado mucopurulento no lumen dun bronquíolo (estrela), fibrose (asterisco) da parede xunto con infiltrado inflamatorio mononuclear (cabeza de frecha) e necrose da superficie epitelial (frechas) (H-E); (c) foco caseonecrótico estendido (asterisco) con centro eosinofílico delimitado por células inflamatorias, restos de epitelio bronquiolar necrótico e fibrose (H-E); (d) detalle do foco caseonecrótico (asterisco) con antixeno granular de *M. bovis* predominantemente na periferia (inmunohistoquímica)



Imaxe de García-Galán et al., *Animals*, 202, 11, 1470

selectiva imposta polo uso excesivo destes antibióticos no campo. Así mesmo, os valores de concentración mínima inhibitoria e a identificación de mutacións mediante a análise da secuencia xenética revelaron que a maioría dos illamentos españois son resistentes a macrólidos, lincosamidas e tetraciclinas. A valnemulina foi o único antibiótico que demostrou eficacia in vitro fronte a ambos os subtipos.

O segundo traballo examinou 23 xatos de ceba criados no sueste de España que presentaban signos clínicos de enfermidade respiratoria e non respondían o tratamento antibiótico (2016-2019). Investigouse a presenza de *M. bovis* mediante bacterioloxía (cultivo e subsecuente PCR), histopatoloxía e inmunohistoquímica. Detectouse o patóxeno en 86,9 % dos xatos, principalmente nos pulmóns, o que apoia a hipótese de que a infección podería ser endémica nos cebadeiros españois.

A inmunohistoquímica mostrou antixenos de *M. bovis* en 73,9 % dos animais, principalmente adheridos ás células epiteliais das luces dos bronquios e bronquíolos e na periferia dos focos caseonecróticos. Nestes animais, a lesión máis común foi a broncopneumonía caseonecrótica, seguida de bronquiolite e hiperplasia de tecido linfoide asociado ao bronquio (figura 3). Tamén se observaron patróns pulmonares asociados a outros virus e bacterias, unha variedade esperada dado o carácter multifactorial do complexo respiratorio bovino, no que participan diversos axentes, e cada un dos cales pode dar lugar a lesións histopatolóxicas diversas.

Os ensaios de concentración mínima inhibitoria confirmaron a resistencia da maioría dos illamentos a case todos os antibióticos utilizados para o tratamento dos animais no campo. Isto podería ser o resultado de resistencia adquirida tras o tratamento, ou a que os illamentos xa

fosen resistentes antes deste, como se observou en xatos de ceba en Francia.

O terceiro traballo combinou o estudo de árbores filoxenéticas e detalladas análises xenómicas comparativas de 36 illamentos de *M. bovis* obtidos en España (2016-2018). Iso permitiu confirmar a natureza en mosaico de 16 illamentos de campo e proporcionou evidencias de que a transferencia cromosómica pode ocorrer no campo, probablemente durante coinfeccións con múltiples cepas. Aínda que descoñecemos con que frecuencia se produce, este fenómeno contribúe á ampla diversidade e reorganización xenómica de *M. bovis* e podería ter un tremendo impacto no diagnóstico e control da enfermidade. Por exemplo, podería reducir o valor epidemiolóxico dos sistemas de tipaxe molecular, xa que a variedade de subtipos descritos nun país, rexión ou granxa, poderían non ser só o resultado da introdución de novas cepas desde o exterior senón resultado da recombinación entre cepas autóctonas. Doutra banda, a transferencia cromosómica tamén podería afectar o diagnóstico específico de especie, xa que moitas outras especies de micoplasmas comparten o mesmo nicho ecolóxico con *M. bovis* no gando. De feito, varios estudos suxiren que diferentes especies poden participar na transferencia cromosómica. Este fenómeno foi documentado en condicións de laboratorio entre *M. bovis* e *M. agalactiae*, e estudos por computador demostraron que *M. agalactiae* intercambiou unha gran parte do seu xenoma con especies de micoplasmas de ruminantes filoxeneticamente distantes. Así, ao modificar os límites entre especies e cepas, a transferencia cromosómica pode afectar tanto os estudos diagnósticos como os epidemiolóxicos, o cal podería comprometer a implementación de estratexias de control efectivas. Ademais, entre os fragmentos transferidos atopáronse proteínas e lipoproteínas de membrana. Dado que os micoplasmas carecen de parede celular, a súa membrana está en contacto directo co hóspede, polo que a modificación, ganancia ou perda deste tipo de xenes pode afectar drasticamente a interacción patóxeno-hóspede. De igual forma, o tratamento con antibióticos podería verse afectado se se transfiren ►

► BAIXO AS CONDIÇÕES AVALIADAS, A ADICIÓN DE *LACTOBACILLUS SPP.* DIMINÚE A VIABILIDADE DE *M. BOVIS* NO MOCO CERVICAL, O QUE SUXIRE QUE PODERÍA SER ÚTIL PARA CONTROLAR A PROLIFERACIÓN DO PATÓXENO O TRACTO CÉRVICO-VAXINAL DAS VACAS



xenes codificantes de dianas de antibiótico con mutacións de resistencia desde cepas resistentes a cepas susceptibles. Faucher e colaboradores mostraron que a transferencia cromosómica permitía que cepas de micoplasmas susceptibles adquirisen rapidamente, de poboacións xa resistentes, múltiples fragmentos cromosómicos con mutacións de resistencia a fluoroquinolonas. Previamente, observamos que en España todos os illamentos do ST2 son susceptibles a fluoroquinolonas, mentres que a maioría dos illamentos do ST3 adquiriron mutacións de resistencia a estes antibióticos. Un só evento de transferencia cromosómica de illamentos resistentes cara a illamentos susceptibles, seguido pola expansión e transmisión do xenoma mosaico resistente a outros animais, granxas ou rexións, podería comprometer definitivamente o tratamento de infeccións por *M. bovis* con fluoroquinolonas. Indirectamente, o movemento de animais entre granxas, unha práctica común na industria de gando de carne en España, probablemente contribuíría a esta situación ao facilitar a mestura de illamentos con diferentes susceptibilidades aos antibióticos.

No cuarto e quinto estudos avaliáronse diferentes estratexias baixo condicións de laboratorio para reducir o risco de transmisión de *M. bovis* a través de tecnoloxías de inseminación artificial. Por unha banda, probouse a viabilidade de

M. bovis en seme de touro diluído nunha solución de Tris-citrato-frutosa, tras a adición de enrofloxacina, doxiciclina ou un probiótico a base de *Lactobacillus spp.* Os datos mostraron a susceptibilidade do patóxeno á adición de 0,125 µg/mL de enrofloxacina ou 0,0625 µg/mL de doxiciclina e á adición do probiótico a unha concentración de $3,24 \times 10^6$ unidades formadoras de colonias (UFC)/mL ou $3,24 \times 10^8$ UFC/mL no seme diluído. O medio Tris-citrato-frutosa afectou negativamente a viabilidade de *M. bovis*, aínda que este efecto foi menor en comparación co observado tras a adición do probiótico e os antimicrobianos ($p < 0.05$).

Pola outra, estudouse a viabilidade de *M. bovis* en moco cervical tras a adición de *Lactobacillus spp.* A adición do probiótico a unha concentración de $3,24 \times 10^8$ UFC/mL mostrou un efecto prexudicial ($p < 0.05$) sobre a viabilidade do micoplasma no moco cervical. Isto coincidiu cun crecemento significativo de bacterias ácido-lácticas e unha redución importante do pH de 8.4 a 5.6 ($p < 0.05$).

Con todo, con concentracións menores de probiótico, a supervivencia de *M. bovis* non se viu afectada. Aínda que o efecto observado parece estar relacionado coa diminución do pH tras a proliferación de bacterias ácido-lácticas no moco cervical, son necesarios máis estudos para esclarecer se existen outros factores involucrados. Globalmente, os resultados obtidos en ambos os traballos pode-

rían apoiar o uso de novas estratexias para reducir o risco de transmisión de *M. bovis* a través da inseminación artificial.

Froito de todos os traballos que conformaron o traballo de tese doutoral, obtivéronse **seis conclusións principais**, que se enumeran a continuación:

1. *M. bovis* atópase amplamente distribuído nos rabaños españois de bovino de carne e está implicado en casos de mamite nos rabaños de leite.
2. Os illamentos españois de *M. bovis* agrúpanse en dous subtipos, ST2 e ST3, ambos resistentes aos macrólidos, lincosamidas e tetraciclinas. A maioría dos illamentos do ST3 son resistentes ás fluoroquinolonas, o que indica a notable capacidade do ST3 de acumular mutacións nas rexións determinantes de resistencia a quinolonas e reflicte a presión selectiva imposta polo uso destes antibióticos no campo. A valnemulina mostrou ser eficaz fronte a ambos os subtipos in vitro.
3. *M. bovis* desempeña un rol importante nos casos de enfermidade respiratoria en xatos de ceba en España. A broncopneumonía caseonecrótica é o patrón morfolóxico máis común nos animais infectados e a miúdo coexisten patróns asociados a outras bacterias e virus. Os illamentos de *M. bovis* recuperados destes casos clínicos mostran resistencia in vitro á maioría dos antibióticos empregados para o tratamento en campo.

4. A coexistencia de diferentes liñas de *M. bovis* en canto a rabaño, e mesmo en canto ao animal, facilita eventos de transferencia xenética horizontal, como a transferencia cromosómica dos micoplasmas. Estes eventos contribúen a diversidade do xenoma e poderían dificultar o diagnóstico e control da enfermidade.
5. Nas condicións avaliadas, a adición de *Lactobacillus* spp., enrofloxacin ou doxiciclina afecta negativamente á viabilidade de *M. bovis* en semente diluído, o que podería ser útil para tratar as doses seminais e diminuír o risco de transmisión de *M. bovis* durante a inseminación artificial. Tamén se observou que o diluínte seminal Tris-citrato-frutosa lle afecta negativamente á viabilidade do axente, aínda que en menor medida que o probiótico e antibióticos.
6. Baixo as condicións avaliadas, a adición de *Lactobacillus* spp. diminúe a viabilidade de *M. bovis* en moco cervical, o que suxire que podería ser útil para controlar a proliferación do patóxeno o tracto cérvico-vaxinal das 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., Marenda, 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 respiratory 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.vetmic.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>