

# Ocurrencia de estructuras compatibles con hemoplasmas en caninos no domiciliados de Cuba

## Occurrence of hemoplasma compatible structures of non-domiciled canines in Cuba



<https://eqrcode.co/a/ga4Vry>

<sup>1</sup>Eliany Rodríguez-Mirabal<sup>1</sup>, <sup>2</sup>Lissett Roblejo-Arias<sup>1</sup>, <sup>3</sup>Oswaldo Fonseca-Rodríguez<sup>2</sup>,  
Ernesto Vega-Cañizares<sup>3</sup>, <sup>4</sup>Evelyn Lobo-Rivero<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>MYCOLAB, Laboratorio de Referencia de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) para el Diagnóstico de micoplasmosis aviar, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, CP 32 700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

<sup>2</sup>Department of Epidemiology and Global Health, Umeå, University, 901 85, Umeå, Sweden.

<sup>3</sup>Grupo de Epidemiología-Clinica, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, CP 32 700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

**RESUMEN:** La hemoplasmosis canina es una enfermedad causada por micoplasmas hemotróficos (hemoplasmas) que afectan a los canes sin distinción de raza o edad. Estos agentes (antiguamente pertenecientes a los géneros *Haemobartonella* y *Eperythrozoon*) son bacterias epieritrocitarias obligadas que pueden inducir anemia en el huésped infectado y que se reconocen por su potencial zoonótico. El objetivo del presente estudio fue detectar la presencia de estructuras compatibles con hemoplasmas (ECHM) en poblaciones de perros no domiciliados de la provincia La Habana, Cuba. Se colectaron muestras de 124 perros procedentes de 11 municipios de esta provincia. El diagnóstico se realizó a través de la observación de frotis sanguíneos teñidos con Giemsa y por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), amplificando una región del gen ARNr 16S de la clase *Mollicutes*. En el 23 % de los perros analizados se detectó la presencia de ECHM y en el 41% de las muestras, procesadas por PCR, se diagnosticó *Mollicutes*. No se encontró asociación entre la presencia de ECHM y la anemia que tenían los animales. Se identificó el patrón espaciotemporal de ECHM, el cual indica que en todos los municipios incluidos en este estudio se detectaron canes infectados con ECHM. Este resultado constituye el primer estudio de este tipo que se realiza en Cuba y evidencia la necesidad de confirmar, por otros ensayos moleculares, la identificación de hemoplasma y el desarrollo de una estrategia de prevención y control sobre esta entidad.

**Palabras clave:** anemia, caninos, hemoplasmas, micoplasmas, PCR.

**ABSTRACT:** Canine hemoplasmosis is a disease caused by hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas) that affects dogs regardless of breed or age. These agents (formerly belonging to the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon*) are obligate eperythrocytic bacteria that can induce anemia in the infected host and are recognized for their zoonotic potential. The objective of the present study was to detect the presence of hemoplasma compatible structures in populations of non-domiciled dogs in Havana province, Cuba. Samples were collected from 124 dogs from 11 municipalities of this province. Diagnosis was carried out by observation of blood smears stained with Giemsa and by polymerase chain reaction (PCR), amplifying a region of the 16S rRNA gene of the class *Mollicutes*. Hemoplasma compatible structures were detected in 23 % of the dogs tested and *Mollicutes* was diagnosed in 41 % of the samples processed by PCR. No association was found between the presence of hemoplasma compatible structures and anemia in the animals. The spatiotemporal pattern of hemoplasma compatible structures was identified, indicating that dogs infected with them were detected in all the municipalities included in this study. No association was found between hemoplasma infection and the presence of anemia. The spatiotemporal pattern of hemoplasma infection was identified, indicating that dogs infected with it were detected in all the municipalities included in this study. This result is the first study of this type to be carried out in Cuba and evidences the need to confirm, by other molecular assays, the identification of hemoplasma and the development of a prevention and control strategy for this entity.

**Key words:** anemia, canines, hemoplasmas, mycoplasmas, PCR.

### INTRODUCCIÓN

Los organismos pertenecientes al género *Mycoplasma* están ampliamente diseminados en la naturaleza como patógenos de humanos, mamíferos, reptiles, peces, artrópodos y plantas (1). Este género se divide, a su vez, en dos grupos debido a características diferentes en cuanto a filogenia y propiedades biológi-

cas específicas: el grupo de micoplasmas de las mucosas y el grupo de hemoplasmas (2). Hemoplasma es el nombre trivial usado para referirse a los micoplasmas hemotróficos, anteriormente clasificados como rickettsias de los géneros *Eperythrozoon* o *Haemobartonella*, basado en el análisis genético y similitudes morfológicas del ARN ribosomal 16S (ARNr 16S (3,4).

\*Autor para la correspondencia: Evelyn Lobo-Rivero. E-mail: [elobo@censa.edu.cu](mailto:elobo@censa.edu.cu)

Recibido: 20/10/2020

Aceptado: 19/02/2021

Estos agentes son epieritrocitarios obligados o están presentes como bacterias que flotan libremente en el torrente sanguíneo e infectan a los mamíferos, incluidas las especies domésticas, las de vida silvestre y los humanos (4,5,6,7). Dado que carecen de muchas de las vías metabólicas asociadas con la producción de energía y la síntesis de componentes celulares que se encuentran en otras bacterias, son totalmente dependientes de los glóbulos rojos y los factores de crecimiento del huésped. Hasta la fecha no son cultivables *in vitro* (8,9,10).

Al menos una docena de especies de hemoplasmas se reportan infectando a animales domésticos (11). De ellas, afectan a los caninos, principalmente *Mycoplasma haemocanis* (antes *Haemobartonella canis*) y "*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*" (12,13). El principal signo clínico en animales infectados es la anemia aguda o crónica, especialmente en huéspedes inmunodeprimidos; sin embargo, muchos animales desarrollan infecciones inaparentes y son asintomáticos (14). La evidencia acumulada muestra que los síntomas son generalmente más severos en individuos inmunodeprimidos, esplenectomizados y cuando están coinfectados con diferentes hemoplasmas u otros patógenos (15,16). Las pulgas, garrapatas y otros artrópodos se relacionan con la propagación de los hemoplasmas (17); no obstante, en muchos casos, la evidencia de transmisión por vectores es circunstancial y carece de confirmación experimental. Se señalan otras vías de transmisión (directa, vertical, transfusión de sangre) para algunas especies (18,19).

Durante un tiempo, el diagnóstico de infecciones por estos microorganismos se basó únicamente en la identificación citológica de los mismos en frotis sanguíneos; suelen aparecer como formas cocoides, aunque también se observan en forma de bastón y anillo y se les denominan Estructuras Compatibles con Hemoplasmas (ECHM) (10). Para este método se señala que la especificidad diagnóstica a menudo se ve obstaculizada por la confusión de organismos con precipitados de tinción o cuerpos de Howell-Jolly (20). Es por esto que, la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, del inglés "Polymerase Chain Reaction"), es el método de preferencia a utilizar para su diagnóstico (21,22).

Alguna vez se pensó que los hemoplasmas estaban restringidos a animales, pero ya en 1972, en los Estados Unidos de Norte América (EE.UU), se sospechaba que eran patógenos humanos, cuando Kallick *et al.* (23) visualizaron estructuras similares a *Haemobartonella* en la sangre de pacientes con lupus eritematoso sistémico. En 2008, un primer caso humano de infección por *M. haemofelis* fue autenticado por PCR a partir de sangre (24) y otros grupos de investigación notificaron casos de bacteriemia causada por hemoplasmas en China (7) y "*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*" en EE.UU. (25). Existen varios reportes sobre el potencial zoonótico de

hemoplasmas encontrados típicamente en animales, entre los que se incluyen *Mycoplasma haemofelis* y/o *Mycoplasma haemocanis* (18,26).

En Cuba está reportada la presencia de micoplasmas de las mucosas infectando a aves, bovinos, cerdos, equinos, ovinos, así como contaminantes de productos biológicos de aplicación biomédica (27,28). En el caso de los hemoplasmas, se tiene evidencia de ECHM en muestras clínicas de equinos y ovinos (27). Sin embargo, se desconoce sobre la presencia de estas especies en perros. El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de ECHM en poblaciones de perros no domiciliados de la provincia La Habana.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Periodo de estudio, procedencia y colecta de muestras

El estudio transcurrió desde septiembre de 2015 hasta abril de 2017. Se realizó un muestreo al azar a 124 perros no domiciliados, sin distinción de edad, sexo o raza procedentes de 11 municipios de la provincia La Habana (Boyeros, Habana Vieja, Playa, Guanabacoa, Habana del Este, Arroyo Naranjo, Cotorro, Centro Habana, La Lisa, Marianao y 10 de Octubre). Se seleccionaron estos animales por el potencial que tienen como reservorios y diseminadores de enfermedades en zonas urbanas. Se excluyeron del estudio animales en estado crítico de salud y animales en post-tratamiento.

### Diagnóstico de ECHM por extensiones sanguíneas

Se colectó sangre periférica, por punción de la vena marginal de la oreja, utilizando los métodos de manejo y sujeción correctos para el procedimiento, tal y como lo describe Manual Merck(9). Las extensiones se fijaron con metanol absoluto (Uni-Chem) y se tiñeron durante 30 minutos con Giemsa, según Núñez *et al.* (29). La lectura se realizó en un microscopio óptico (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Alemania), con lente de inmersión a una magnificación final de 1000X.

### Análisis hematológico

La sangre se obtuvo mediante punción de la vena yugular, utilizando agujas hipodérmicas calibre 25 X 0,8 mm (21G) y tubos para extracción de sangre por sistema de vacío de 4 mL (BD Vacutainer®) con 7,2 mg de EDTA K2 como anticoagulante. Una parte de la sangre colectada se empleó para el análisis de los parámetros hematológicos y el resto se almacenó en crioviales (Neogene) a -20°C. Para determinar el hematocrito se utilizó una centrifuga de microhematocrito (JOVEL Hema-C), sangre por sistema de vacío de 4 mL (BD Vacutainer®), con 7,2 mg de EDTA K2 como anticoagulante. Los parámetros hematológicos se analizaron comparando con los valores de referen-

cia descritos para la especie canina por Ettinger y Feldman (5). Todas las muestras se trabajaron en las primeras 24 horas después de la colecta.

### Extracción de ADN y realización de PCR

Se utilizaron 300  $\mu$ L de sangre con anticoagulante para la extracción del ADN mediante el juego de reactivos Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, EE. UU), según las indicaciones del fabricante. El ADN se resuspendió en 100  $\mu$ L de solución tampón de elusión (Promega). La calidad y la concentración del ADN se determinaron en el equipo Thermo Scientific Nanodrop 2000 Spectrophotometer.

Todas las muestras se ensayaron por un PCR convencional, empleándose los cebadores GPO-3 F 5'-GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT-3' y MGSO R 5'-TGCACCATCTGTCACTCTGTAAACCTC-3', los que amplifican una región de 270 pb, correspondiente al ARNr 16S de la clase *Mollicutes*, previamente descrito por Van Kuppeveld *et al.* (30).

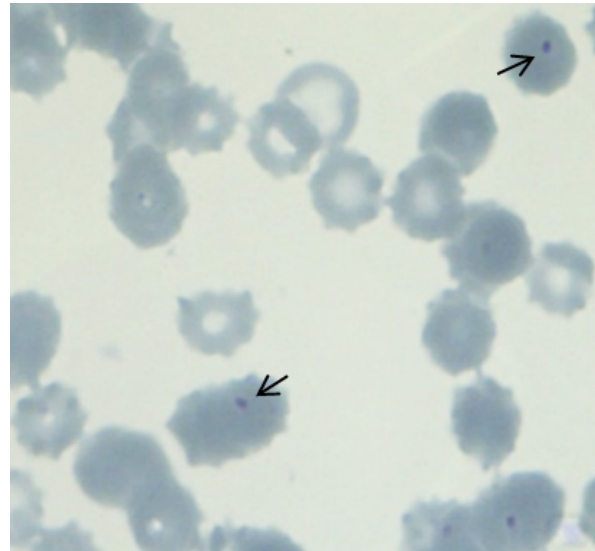
La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 25  $\mu$ L, que contenía 3  $\mu$ L del ADN de la muestra clínica, 20 pmol de cada cebador, 1X Green Master Mix (Promega). Se usó agua libre de nucleasas como control negativo de la reacción y, como control positivo, 3  $\mu$ L de ADN de *Mycoplasma haemocanis* (donado gentilmente por la Universidad de Sao Paulo, Brasil). Se realizó un PCR convencional en un Eppendorf Mastercycler® bajo las siguientes condiciones: un primer ciclo a 94°C durante 4 min., seguido de 35 ciclos: desnaturalización a 94°C (1 min.), hibridación a 58°C (1 min.) y extensión a 72°C (2 min.). La amplificación se completó por un ciclo adicional de 8 min a 72°C. Se realizó la corrida a 100 volt en un gel de agarosa al 2 % inmerso en una solución tampón (TBE 0,5X) (30). El gel fue teñido con bromuro de etidio que, al ser expuesto a la luz ultravioleta, emite una señal y permite la visualización del producto en forma de bandas. Los productos se visualizaron mediante un transiluminador de luz UV; en todos los casos se utilizó un Patrón de Peso Molecular (PPM) de 100 pb.

### Análisis estadístico

Se calculó el porcentaje de casos positivos a ECHM y la presencia de estructuras compatibles con hemoplasmas, y se relacionaron con animales positivos y negativos por PCR mediante tabla de contingencia y prueba Chi-cuadrado de independencia. Para el análisis se empleó el programa para análisis epidemiológico de datos tabulados Epidat 3.1. Los resultados se mostraron en un diagrama de Venn. El porcentaje de animales positivos por PCR en cada municipio se representó en un mapa procesado en el programa QGIS 3.0.1., con grafología de distribución y se compararon mediante análisis de comparación múltiple de proporciones en el software CompaProWin 2.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra estructuras compatibles con hemoplasmas en las extensiones sanguíneas analizadas. El comportamiento observado coincide con lo reportado por Portiansky *et al.* (31), quienes describen organismos en forma de cocos, bastones y anillos, en cadenas, individuales o asociados en la superficie de las células rojas de la sangre compatibles con hemoplasmas.



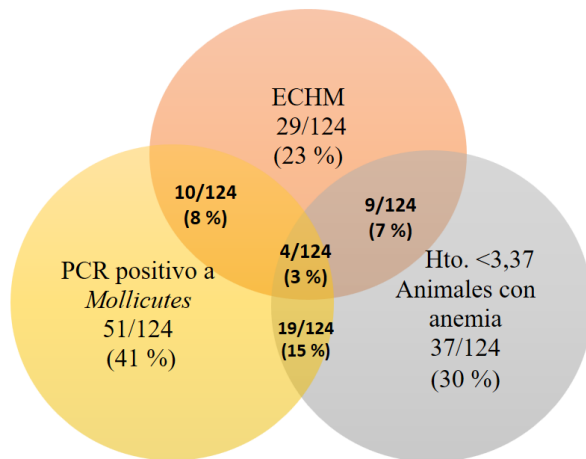
**Figura 1.** Extensiones sanguíneas, teñidas con GIEMSA, procedentes de muestras de sangre de perros no domiciliados de La Habana. Flechas indican estructuras compatibles con hemoplasmas (ECHM). / *Blood smears, stained with Giemsa, from blood samples of non-domiciled dogs from Havana. Arrows indicate hemoplasma compatible structures.*

Se refiere que el número de eritrocitos infectados puede variar desde apenas un número detectable hasta más del 80 % de los glóbulos rojos (32). En tal sentido, aunque en este trabajo no se determinó el nivel de infección por hemoplasmas en los glóbulos rojos, sí se observó una variabilidad en el número de estructuras compatibles con hemoplasmas (ECHM) por campo microscópico observado. Es importante señalar que los hemoplasmas, en su mayoría, se encuentran unidos a los eritrocitos, aunque en algunas ocasiones también pueden visualizarse en el plasma debido a la ruptura de los hematíes (31).

Observaciones similares reportan Greene (33) y Santos *et al.* (15), quienes señalan que esto es un fenómeno normal dentro de la etiopatogenia de los hemoplasmas debido a la lisis del eritrocito, y que también puede observarse cuando se realiza el frotis a partir de sangre total que contiene el anticoagulante ácido etilendiamino tetraacético (EDTA). El anticoagulante puede provocar el desprendimiento del hemoplasma del eritrocito y llegar al plasma (34). Por tal motivo, es uno de los elementos que se tienen en cuenta para recomendar en el diagnóstico de hemoplasmas y la

realización de extensiones sanguíneas a partir de sangre marginal de la oreja.

En el 23 % de las muestras analizadas se detectó la presencia ECHM (Fig.2). Este resultado es inferior al encontrado por Tártara *et al.* (10), quienes reportan 76 % de positividad en 100 perros muestreados. Esto puede deberse a que, en ese caso, el muestreo fue dirigido a animales que presentaban síntomas de anemia y dificultades respiratorias, al contrario del realizado en este trabajo, pues se realizó un muestreo al azar. Sin embargo, los resultados son superiores a los señalados por Santos *et al.* (15), quienes obtuvieron 11,3 % de animales positivos cuando muestrearon 176 perros que vivían en zonas rurales de Belo Horizonte, Brasil y al 5,8 % encontrado, por el mismo autor, cuando muestreó a 104 perros procedentes de zonas urbanas del mismo estado.



**Figura 2.** Diagrama de Venn. Número de perros no domiciliados de La Habana que presentaron Estructuras Compatibles con Hemoplasmas (ECHM) (Arriba); resultaron positivos a *Mollicutes* por la técnica de PCR (Izquierda); total de animales con valor de hematocrito (Hto.) inferior al límite fisiológico (0.37 L/L) (Derecha). / Venn Diagram. Number of non-domiciled dogs in Havana presenting hemoplasma compatible structures (Above); they were positive to *Mollicutes* by PCR technique (Left); total of animals with hematocrit value (Ht.) lower than the physiological limit (0.37 L / L) (Right).

Otra posible explicación es la relación entre el curso de la enfermedad y el momento de la colecta de muestra. Los hemoplasmas o ECHM son mayormente detectados en sangre cuando se inicia la fase aguda de la enfermedad, la cual se corresponde con el incremento máximo de los microorganismos en sangre y la producción de signos clínicos. No obstante, durante esta fase se pueden producir fluctuaciones en el número de estos microorganismos circulantes en sangre (14,35).

Es importante señalar que los perros muestreados, en este trabajo, están sometidos a un régimen social, alimentario, conductual y sanitario que no se corresponde con las pautas establecidas por la Organización Internacional de Sanidad Animal (OIE) (36) en el Có-

digo Sanitario para Animales Terrestres, constituyendo estos aspectos factores desencadenantes de estrés.

La similitud de estos microorganismos con otros agentes puede comprometer la confiabilidad del resultado final; estos aspectos, unidos a la imposibilidad del cultivo de estas bacterias, suponen la utilización de ensayos de ácidos nucleicos para corroborar el diagnóstico emitido a partir de frotis sanguíneos (37). Los ensayos de PCR diseñados a partir de la región altamente conservada del ARNr 16S de la clase *Mollicutes*, permiten diagnosticar los micoplasmas de las mucosas y los hemoplasmas (38,39). En las muestras analizadas se amplifica una banda de 270 pb correspondiente al ARNr 16S; estas coinciden con la banda amplificada por el control positivo, lo cual pudiera indicar la presencia de hemoplasmas.

La utilización del PCR para la detección e identificación de hemoplasmas basan su empleo en las características que presenta el ARNr 16S. En tal sentido, Willi *et al.* (39) plantean que son los genes mejor caracterizados en la clase *Mollicutes*, ya que son muy conservados, lo cual los convierte en excelentes marcadores para estudios de filogenia. Además, la selección y la amplificación de los mismos son relativamente fáciles y la amplificación de los genes ribosomales sirve como prueba de detección e identificación de los micoplasmas en muestras clínicas (40).

En el 41 % de las muestras procesadas por PCR se detectó la presencia de *Mollicutes* (Fig. 2). Resultados similares se obtuvieron por Brinson y Messick (21) y Soares *et al.* (13), ya que refirieron la alta sensibilidad del PCR en el diagnóstico de micoplasmas hemotrópicos, sobre todo cuando los animales se encuentran cursando la fase crónica de la enfermedad y la cantidad de microorganismos en sangre es menor, por lo que se dificulta la detección a partir del frotis sanguíneo.

La diferencia entre los animales donde se detectó la presencia de estos microorganismos por frotis sanguíneos (29 muestras) y por PCR (51 muestras) coincide con lo reportado por Ortiz-Jones (14), quien señala que se recomienda el PCR para el estudio de casos crónicos de la enfermedad, ya que permite detectar perros infectados en los cuales el microorganismo se mantiene durante periodos prolongados, llegando a ser portadores asintomáticos de la enfermedad o los niveles de estos en sangre son menores, lo cual supone el estado de cronicidad de la enfermedad en la población investigada.

A pesar de estos resultados, se reconoce como limitante del presente trabajo investigativo la no identificación de especies de hemoplasmas que pudieran estar presentes en las muestras analizadas, aspecto importante por las potencialidades que algunas de ellas tienen como agentes zoonóticos (26,41,42). Por tal motivo, conocer las especies de hemoplasmas que se encuentran circulando en las escenarios estudiados se convierte en un punto de partida para futuros trabajos investigativos.

La utilización de herramientas y métodos de análisis estadísticos más avanzados se hace cada vez más necesaria para conocer con más exactitud la distribución espaciotemporal de las enfermedades, sus factores de riesgos y vías de transmisión, entre otros aspectos de interés (43). En tal sentido, la Figura 3 muestra la distribución, por municipios trabajados, de perros no domiciliados positivos a ECHM. Como se puede observar en todas las localidades incluidas en este estudio, se detectó - en diferentes proporciones - la presencia de canes infectados por estas bacterias. Los municipios más afectados fueron Cotorro (60 %), Diez de Octubre (60 %), Guanabacoa (50 %), Habana del Este (50 %) y Marianao (44 %).

Un aspecto importante en este resultado es la posibilidad de identificar áreas de alto y bajo riesgos de ocurrencia de brotes de la enfermedad, teniendo en cuenta la proporción de animales detectados con el agente (44). Resultados similares a los obtenidos en este estudio se reportan por Spolidorio *et al.* (45), Novacco *et al.* (46) y Constantino *et al.* (44), cuando realizaron estudios sobre la distribución espacial de estos patógenos presentes en perros que viven en áreas públicas con altos niveles de movimiento humano, con el objetivo de conocer la posibilidad de su transmisión a través de mordeduras y/o vectores, así como el estado de salud de los canes. Estudios realizados por Roura *et al.* (47) indican que los machos con libre acceso a ambientes al aire libre tienen significativamente más probabilidades de presentar una infección por hemoplasmas. En estos casos, el contacto con sangre infectada durante las peleas probablemente favorecerá la infección, ya que en su caso no observó asociación con la infestación de garrapatas.

Al realizar la evaluación hematológica, el 30 % de los perros muestreados presentaron valores de hematocrito inferiores a los descritos como fisiológicos para la especie canina (Hto = 0,37-0,55 L/L). En tal sentido, es importante definir el tipo de anemia, pues

se conoce que esta puede ser regenerativa y no regenerativa (48). La anemia regenerativa se caracteriza por una apropiada respuesta de la médula ósea que libera una mayor cantidad de glóbulos rojos inmaduros a la sangre. La misma puede ser resultado tanto de una pérdida de sangre (hemorragia) como de una hemólisis. En este último caso se encuentra la conocida anemia hemolítica infecciosa producida por hemoplasmas (49).

El 70 % de los perros mostraron valores normales de hematocrito. Se plantea que estos valores están presentes en caninos con un estado de salud aceptable o en aquellos casos donde existe una hemoconcentración producto de la deshidratación del animal, que puede incrementar en forma falsa los indicadores de la masa de glóbulos rojos. Este último criterio se reporta de manera común en perros no domiciliados (50).

Resultados similares a los obtenidos en este trabajo, hallaron Roura *et al.* (47) y Rikihisia *et al.* (51), pues señalan que en estados de recuperación de la infección se pueden detectar hemoplasmas en sangre y, en el caso de que se haya producido una anemia, el hematocrito comienza a recuperarse, lo cual explica el comportamiento encontrado. Durante la fase de portador, aunque se pueden detectar hemoplasmas en los glóbulos rojos, el hematocrito se encuentra en los valores fisiológicos y no hay signos clínicos.

Por otra parte, Greene (33) señala que la presencia de otros hemoparásitos, bacterias y/o factores de alimentación pueden influir en la aparición de anemia. Estos resultados son contrarios a los expresados por Biondo *et al.* (17) y Andersson *et al.* (51), quienes observaron que los animales que desarrollaron hemoplasmosis presentaron anemia en grado variable. El nivel de anemia y el desarrollo de signos clínicos dependen de la especie de hemoplasmas involucrada en la infección, ya que se conoce que, aunque las especies que afectan a los caninos se comportan de manera similar, pueden existir diferencias de patogeni-

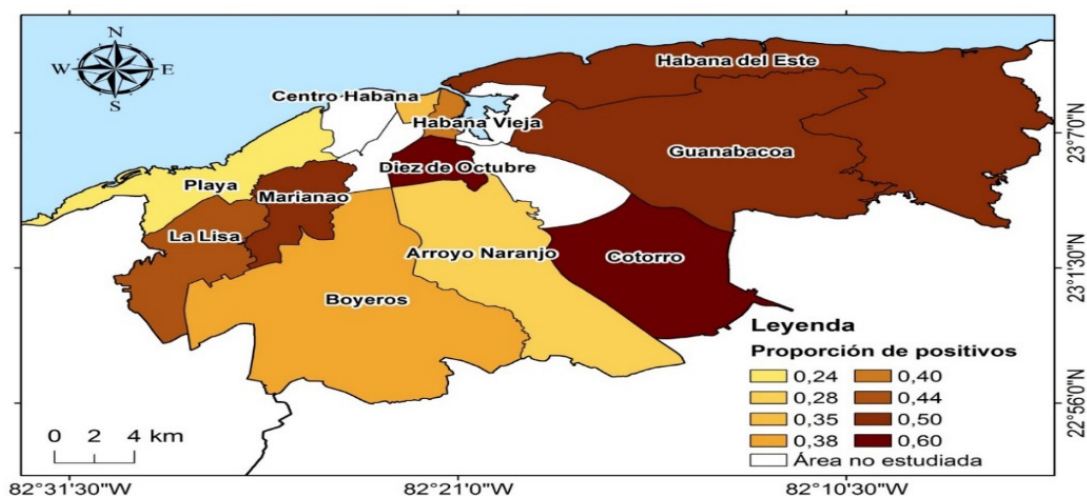


Figura 3. Distribución, por municipios de La Habana, de perros no domiciliados positivos a ECHM. / Distribution, by municipalities in Havana, of non-domiciled dogs positive to hemoplasma compatible structures.

ciudad entre los hemoplasmas que afectan una especie animal (48).

El hecho de encontrar hemoplasmas en perros, procedentes de todos los municipios estudiados, debe elevar la percepción del riesgo sobre la enfermedad en los pobladores y autoridades sanitarias. Es por ello que este resultado debe ser un punto de partida para la continuidad de investigaciones encaminadas a la identificación de las especies de hemoplasmas circulantes, así como de los factores de riesgos asociados a las infecciones causadas por estos microorganismos. Este resultado constituye el primer estudio de este tipo que se realiza en el país y evidencia la necesidad de estrategias de prevención y control sobre esta entidad. Es importante tener en cuenta que estos agentes se consideran como causantes de zoonosis, por tanto, se hace necesario profundizar en sus características y particularidades como parte del control de estas entidades, de manera tal que se pueda encauzar adecuadamente su diagnóstico y las medidas de control, bajo el trabajo de la intersectorialidad y la interdisciplinariedad con el enfoque a Una Salud.

#### REFERENCIAS

- Lobo E. *Mollicutes* de importancia en la Medicina Veterinaria. Diagnóstico y control. Rev Salud Anim. 2012;13.
- Peters R, Helps CR, McAuliffe L, Neimark H, Lappin MR, Gruffydd-Jones TJ, *et al.* RNase P RNA Gene (*rnpB*) Phylogeny of Hemoplasmas and Other *Mycoplasma* Species. J Clin Microbiol. 2008;46(5):1873-1877.
- Neimark H, Johansson K, Rikihisa Y, Tully JG. Revision of haemotrophic *Mycoplasma* species names. Int J Syst Evol Microbiol. 2002;52(2):683.
- Messick JB, Walker PG, Raphel W, Berent L, Shi X. *Candidatus* *Mycoplasma haemodidelphis* sp. nov., *Candidatus* *Mycoplasma haemolamae* sp. nov. and *Mycoplasma haemocanis* comb. nov., haemotrophic parasites from a naturally infected opossum (*Didelphis virginiana*), alpaca (*Lama pacos*) and dog (*Canis familiaris*): phylogenetic and secondary structural relatedness of their 16S rRNA genes to other mycoplasmas. Int J Syst Evol Microbiol. 2002;52(3):693-698.
- Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E. Textbook of Veterinary Internal Medicine-eBook. Elsevier health sciences, 20173. Soares RL, Echeverria JT, Pazzuti G, Patric H, Cleveland K, Babo-Terra V, Friozi E, do Nascimento CA. Occurrence of *Mycoplasma haemocanis* in dogs infested by ticks in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. Ver Bras Parasitol Vet. 2016;25:3.
- Aguirre DH, Thompson C, Neumann, RD, Salatin, AO, Gaido AB, Echaide ST. Clinical mycoplasmosis outbreak due to *Mycoplasma ovis* in sheep from Shalta, Argentina. Rev. Argent. Microbiol. 2009;41(4):212-214.
- Hu Z, Yin J, Shen K, Kang W, Chen Q. Outbreaks of hemotrophic mycoplasma infections in China. Emerg Infect Dis. 2009;15(7):1139-1140.
- Radostits MO, Mayhew GJ, Houston MD. Examen y diagnóstico clínico en veterinaria. EE.UU: Ediciones Harcourt, Saunders. 2002
- Messick JB. The Merck Veterinary Manual [en línea]. USA. Disponible en: [http://www.merckvetmanual.com/mvm/circulatory\\_system/blood\\_parasit](http://www.merckvetmanual.com/mvm/circulatory_system/blood_parasit). 2015 [Consulta: 17 November 2017].
- Tártara G, Pereyra N, Salvador F, González S. Detección de estructuras compatibles con micoplasmahemotróficos en extendidos sanguíneos de perros de la ciudad de Rosario, Argentina. Vet Arg. 2013;30:299.
- Brown DR, Whitcomb RF, Bradbury JM. Revised minimal standards for description of new species of the class *Mollicutes* (division Tenericutes). Int J Syst Evol Microbiol. 2007;57(11):2703-2719.
- Mascarelli P, Gustavo P, Tártara G, Norma B, Maggi G. Detection of *Mycoplasma haemocanis*, *Mycoplasma haematoparvum*, *Mycoplasma suis* and other vector-borne pathogens in dogs from Córdoba and Santa Fé, Argentina. Parasites & Vectors. 2016;9:642.
- Soares RL, Echeverria JT, Pazzuti G, Patric H, Cleveland K, Babo-Terra V, *et al.* Occurrence of *Mycoplasma haemocanis* in dogs infested by ticks in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2016;25(3):360-363.
- Ortiz-Jones M, Pérez R, Cagnoli C. Presentación de un caso compatible con micoplasmosis en un canino. [Tesis de Grado de Medicina Veterinaria]. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA. 2015.
- Santos AP, Conrado FO, Messick JB, Biondo AW, Oliveira ST, Guimarães AM. Hemoplasma prevalence and hematological abnormalities associated with infection in three different dog's populations from Southern Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2014;23(4):428-434.
- Hii SF, Traub RJ, Thompson MF, Henning J, O'Leary CA, Burleigh A, *et al.* Canine tick-borne pathogens and associated risk factors in dogs presenting with and without clinical signs consistent with tick-borne diseases in northern Australia. Aust Vet J. 2015;93(3):58-66.
- Biondo A, Pires A, Sá Guimaraes AM, Da Costa RF, Vidotto O, De Barros D, *et al.* A review of the occurrence of hemoplasmas (hemotrophic mycoplasmas) in Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2009;18(3).
- Almy FS, Ladd SM, Sponenberg DP, Crisman MV, Messick JB. *Mycoplasma haemolamae* infection in a 4-day-old cria: Support for in utero

- transmission by use of a polymerase chain reaction assay. *Can Vet J.* 2006;47:229-233.
19. Kenny JM, Shaw ES, Beugnet F, Tasker S. Demonstration of two distinct hemotropic mycoplasmas in french dogs. *J Clin Microbiol.* 2004;42(11):5397-5399.
  20. Stiller D. Diagnostic Procedure for the private practice laboratory, *Clinical Hematology.* En: Payne, S. y Kerr, M. *Veterinary Hematology.* EE. UU, Océano. 2012
  21. Brinson JJ, Messick JB. Use of a polymerase chain reaction assay for detection of *Haemobartonella canis* in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 2001;218(12):1943-1945.
  22. Taroura S, Shimada Y, Sakata Y, Miyama T, Hiraoka H, Watanabe M, *et al.* Detection of DNA of *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Spiroplasma* sp. in unfed ticks collected from vegetation in Japan. *J Vet Med Sci.* 2005;67(12):1277-1279.
  23. Kallick CA, Levns S, Reddi KT, Landau WL. Systemic lupus erythematosus associated with haemobartonella-like organisms. *Nat New Biol.* 1972;236(66):145-146.
  24. Santos AP, Conrado FO, Messick, JB, Biondo AW, Oliveira ST, Guimarães AM. Hemoplasma Infection in HIV-positive Patient, Brazil. *Emerging Infectious Diseases,* 2008;18(12):1922-1924.
  25. 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(10).
  26. Schurer JM, Hill JE, Fernando C, Jenkins EJ. Sentinel surveillance for zoonotic parasites in companion animals in indigenous communities of Saskatchewan. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;87:495-498.
  27. Matos R, Lobo E. Presencia de *Mycoplasma ovis* en rebaños ovinos de San José de las Lajas, Mayabeque. [Tesis de Diploma]. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de la Habana (UNAH). 2017.
  28. Pérez A. Caracterización de contaminaciones por micoplasmas en cultivos celulares. [Tesis en opción al grado de Master en Microbiología Veterinaria]. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). 2017.
  29. Núñez OL. Patología Clínica Veterinaria. Ed. UNAM. 2007;pp. 28-31, 42-58.
  30. Van Kuppeveld F, Johansson K, Galama J, Kissing J, Bolske G, Van der Logt J, *et al.* Detection of Mycoplasma Contamination in cell culture by Mycoplasma Group-Specific PCR. *Appl Environ Microbiol.* 1994;60(1):149-152.
  31. Portiansky EL, Quiroga MA, Machuca MA, Perfumo CJ. Mycoplasma suis in naturally infected pigs: an ultrastructural and morphometric study. *Pesq Vet Bras.* 2004;24:1-5.
  32. Sykes J. Feline hemotropic mycoplasmas. *J Vet Emergency and Care.* 2010;20(1):62-69.
  33. Greene CE. Capítulo 31. Micoplasmosis hemotrófica (hemobartonelosis) En: *Enfermedades infecciosas del perro y el gato.* Buenos Aires, Editorial Inter Médica. 2008.
  34. Martin E. Perros Hemograma Método y Resultados [en línea]. España. Disponible en: <http://www.alimentacioncanina.com/tag/diagnostico-veterinario>. 2013.
  35. Stoffregen WC, Alt DP, Palmer MV, Olsen SC, Waters WR, Stasko JA. Identification of a Haemomycoplasma Species in anemic reindeer (*Rangifer Tarandus*). *J Wild Dis.* 2006;42:249-258.
  36. OIE. Recomendaciones aplicables a las enfermedades de la lista de la OIE y a otras enfermedades importantes para el comercio internacional. Código sanitario para los animales terrestres. OIE. Francia. 2. ISBN 978-92-9044-862-4. 2017
  37. Hackett TB, Jensen WA, Lehman TL, Hohenhaus AE, Crawford PC, Giger U, *et al.* Prevalence of DNA of *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, *Anaplasma phagocytophilum*, and species of *Bartonella*, *Neorickettsia*, and *Ehrlichia* in cats used as blood donors in the United States. *J Am Vet Med Assoc.* 2006;229(5):700-705.
  38. Willi B, Boretti FS, Tasker S, Meli ML, Wengi N, Reusch CE, Lutz H, *et al.* From *Haemobartonella* to hemoplasma: molecular methods provide new insights. *Vet Microbiol.* 2007;125:197-209.
  39. Willi B, Meli ML, Luthy R, Honegger H, Wengi N, Hoelzle L, *et al.* Development and Application of a Universal Hemoplasma Screening Assay Based on the SYBR Green PCR Principle. *J Clin Microbiol.* 2009;47(12):4049-4054.
  40. Tasker S, Helps CR, Day M, Harbour D, Shaw E, Harrus S, *et al.* Phylogenetic Analysis of Hemoplasma Species: An International Study. *J Clin Microbiol.* 2003;41(8):3877-3880.
  41. Sykes JE, Lindsay LL, Maggi RG, Breitschwerdt EB. Human co-infection with *Bartonella henselae* and two hemotropic mycoplasma variants resembling *Mycoplasma ovis*. *J Clin Microbiol.* 2010;48(10):3782-3785.
  42. Steer JA, Tasker S, Barker EN, Jensen J, Mitchell J, Stocki T, *et al.* A novel hemotropic Mycoplasma (hemoplasma) in a patient with hemolytic anemia and pyrexia. *Clin Infect Dis.* 2011;53(11):147-151.
  43. Pfeiffer D, Robinson T, Stevenson M, Stevens K, Rogers D, Clements A, *et al.* Spatial analysis in epidemiology. *FAO.* 2008;69.
  44. Constantino C, Ferraz E, Paula A, Brandão D, Ferreira F, da Costa Vieira RF, *et al.* Survey of spatial distribution of vector-borne disease in neighborhood dogs in southern Brazil. *Open Vet J.* 2017;7(1):50-56.

45. Spolidorio MG, Minervino AH, Valadas SY, Soares HS, Neves KA, Labruna MB, *et al.* Serosurvey for tick-borne diseases in dogs from the Eastern Amazon, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2013;22: 214-219.
46. Novacco M, Meli ML, Gentilini F, Ceci C, Pennisi MG, Lombardo G, *et al.* Prevalence and geographical distribution of canine hemotropic mycoplasma infections in Mediterranean countries and analysis of risk factors for infection. *Vet Microbiol.* 2010;142:276-284.
47. Roura X, Peters IR, Altet L, Tabar M, Barker E, Planellas M, *et al.* Prevalence of hemotropic mycoplasmas in dogs in Spain. *J Vet Diagn Invest.* 2010;28:320-325.
48. Romero AF, Guzmán CJ. Alteraciones sanguíneas en hemogramas de canes. [Tesis de Grado Medicina Veterinaria]. Bolivia, UAGRM. 2010.
49. Dunlop R, Malbert C. *Veterinary Pathophysiology.* 1 ed. EUA: Blackwell Publishing. ISBN13:978-0-8138-2826-8. 2004.
50. Raimundo JM, Guimarães G, Rodríguez RB, Magalhães B, Sandes M, Baldani C. Hematological changes associated with hemoplasma infection in dogs in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J Vet Parasitol.* 2016;25(4):441-449.
51. Rikihisa Y, Kawahara M, Wen B, Kociba G, Fuerst P, Kawamori F, *et al.* Prevalence of hemotropic mycoplasmas in healthy and unhealthy cats and dogs in Spain. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2010;22:270-274.

**Conflicto de Intereses:** Los autores declaran que no existen conflictos de intereses relacionados con el presente artículo

**Contribución de los autores:** Eliany Rodríguez-Mirabal participó en el diseño y ejecución de los experimentos y en la escritura del documento. Lissett Roblejo-Arias participó en el diseño y ejecución de los experimentos. Osvaldo Fonseca-Rodríguez realizó el análisis estadístico de los resultados. Ernesto Vega-Cañizares participó en la ejecución de los experimentos. Evelyn Lobo-Rivero participó en el diseño de los experimentos y en la escritura y revisión del documento. Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final del documento.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)