



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de fin de Máster titulado:

Detección Molecular de *Mycoplasma* spp. en felinos domésticos con FeLV
atendidos en 15 clínicas veterinarias del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador,
2025-2026.

Realizado por:

MVZ. VALERIE ANABEL FLORES MURGUEITIO

Directores del proyecto:

Dr. José Rubén Ramírez, Ph.D.
Lic. Juan Carlos Navarro Castro, Ph.D.

Como requisito para la obtención del título de:

MAGÍSTER EN BIOMEDICINA

QUITO, marzo del 2026

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, Valerie Anabel Flores Murgueitio, ecuatoriana, con Cédula de ciudadanía N° 1750443788, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido presentado anteriormente para ningún grado o calificación profesional, y se basa en las referencias bibliográficas descritas en este documento.

A través de esta declaración, cedo los derechos de propiedad intelectual a la

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido en la Ley de Propiedad Intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.

VALERIE ANABEL FLORES MURGUEITIO

C.I.: 1750443788

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

Dr. José Rubén Ramírez, Ph.D.

C.I. 3050666993

LOS PROFESORES INFORMANTES:

MANUEL ANDRÉS HERRERA YELA

RUBEN ALEXANDER MALDONADO ORBE

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador

Ing. Manuel Andrés Herrera Yela, MSc. Ing. Rubén Alexander Maldonado Orbe, MSc.

Quito, 17 de marzo de 2026

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

Valerie Anabel Flores Murgueitio

C.I.: 1750443788

Artículo de tesis

Detección Molecular de *Mycoplasma* spp. en felinos domésticos con *FeLV* atendidos en 15 clínicas veterinarias del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador, 2025-2026.

Trabajo final de Máster

Valerie Anabel Flores Murgueitio^{1*}, José Rubén Ramírez-Iglesias² and Juan Carlos Navarro³

¹ Maestría en Biomedicina, Fac Cs Salud, UISEK; valerie.flores@uisek.edu.ec

² Maestría en Biomedicina, Fac Cs Salud, UISEK; jose.ramirez@uisek.edu.ec

³ Universidad Alfonso X el Sabio (UAX), Facultad de Veterinaria, Madrid, Spain

* Autor de Correspondencia: valerie.flores@uisek.edu.ec

Resumen: La coinfección por hemoplasmas en felinos domésticos infectados con el *Virus de la Leucemia Felina (FeLV)* constituye un problema relevante en la medicina veterinaria, ya que puede agravar el estado clínico de los animales y favorecer alteraciones hematológicas, además de facilitar la presencia de microorganismos potencialmente zoonóticos. Sin embargo, la información sobre la diversidad molecular de *Mycoplasma* spp. en felinos infectados con *FeLV* en Ecuador constituye un vacío de conocimiento relevante a nivel epidemiológico. Con base en esto, el presente estudio tuvo como objetivo detectar molecularmente *Mycoplasma* spp. y caracterizar filogenéticamente las especies circulantes en felinos domésticos positivos a *FeLV* atendidos en 15 clínicas veterinarias del Distrito Metropolitano de Quito (2025-2026). Se analizaron 20 muestras provenientes de felinos, con diagnóstico confirmado de *FeLV*, mediante amplificación del gen ARNr 16S, seguida de secuenciación Sanger y análisis filogenético. En general, se detectó ADN bacteriano en 16 muestras. La coinfección con *Mycoplasma* spp. se detectó en el 40% (8/20) de los individuos evaluados. La secuenciación molecular permitió identificar *Mycoplasma haemofelis* como la especie predominante, presente en el 25% (5/20) de las muestras positivas, mientras que *Candidatus Mycoplasma haematominutum* se detectó en el 15% (3/20). El análisis BLASTn confirmó la identidad taxonómica de estas secuencias con porcentajes de identidad superiores al 97%. De manera inesperada, varias secuencias de amplicones adicionales (40% o 8/20) mostraron mayor identidad con bacterias del género *Stenotrophomonas*, principalmente *Stenotrophomonas maltophilia*, lo que sugiere posibles coinfecciones del virus *FeLV* con otros géneros bacterianos. La reconstrucción filogenética basada en el modelo evolutivo Kimura de dos parámetros con distribución Gamma (K2+G) generó topologías consistentes mediante los métodos de Máxima Parsimonia y Máxima Verosimilitud. Para este análisis se incorporaron secuencias de referencia obtenidas de la base de datos GenBank, las cuales fueron utilizadas para establecer la relación filogenética entre los aislamientos obtenidos en este estudio y cepas previamente reportadas en Brasil, Malasia, China, entre otros. Estos hallazgos evidencian la circulación de hemoplasmas felinos en gatos positivos a *FeLV* en el DMQ y resaltan la importancia de considerar estas coinfecciones en el diagnóstico clínico. Asimismo, contribuyen al conocimiento de la epidemiología molecular de estos patógenos en Ecuador y apoyan el desarrollo de estrategias de vigilancia y prevención bajo el enfoque de Una Salud.

Palabras clave: felinos; detección molecular; filogenia; *Mycoplasma*; Ecuador; *FeLV*

Abstract: Coinfection with hemoplasmas in domestic cats infected with Feline Leukemia Virus (*FeLV*) is a significant problem in veterinary medicine, as it can worsen the animals' clinical condition and promote hematological disorders, in addition to facilitating the presence of potentially zoonotic microorganisms. However, information on the molecular diversity of *Mycoplasma* spp. in *FeLV*-infected cats in Ecuador represents a significant knowledge gap at the epidemiological level. Based on this, the present study aimed to molecularly detect *Mycoplasma* spp. and phylogenetically characterize the circulating species in *FeLV*-positive domestic cats treated at 15 veterinary clinics in the Metropolitan District of Quito (2025-2026). Twenty samples from cats with a confirmed *FeLV* diagnosis were analyzed by 16S rRNA gene amplification, followed by Sanger sequencing and phylogenetic analysis. Overall, bacterial DNA was detected in 16 samples. Coinfection with *Mycoplasma* spp. was detected in 40% (8/20) of the evaluated individuals. Molecular sequencing identified *Mycoplasma haemofelis* as the predominant species, present in 25% (5/20) of the positive samples, while *Candidatus Mycoplasma haematominutum* was detected in 15% (3/20). BLASTn analysis confirmed the taxonomic identity of these sequences with identity percentages greater than 97%. Unexpectedly, several additional amplicon sequences (40% or 8/20) showed greater identity with bacteria of the genus *Stenotrophomonas*, mainly *Stenotrophomonas maltophilia*, suggesting possible coinfections of *FeLV* with other bacterial genera. Phylogenetic reconstruction based on the Kimura two-parameter evolutionary model with Gamma (K2+G) distribution generated consistent topologies using Maximum Parsimony and Maximum Likelihood methods. For this analysis, reference sequences obtained from the GenBank database were incorporated. These sequences were used to establish the phylogenetic relationship between the isolates obtained in this study and

strains previously reported in Brazil, Malaysia, China, and other countries. These findings demonstrate the circulation of feline hemoplasmas in FeLV-positive cats in the Metropolitan District of Quito (DMQ) and highlight the importance of considering these coinfections in clinical diagnosis. Furthermore, they contribute to the understanding of the molecular epidemiology of these pathogens in Ecuador and support the development of surveillance and prevention strategies under the One Health approach.

Keywords: cat; molecular detection; phylogeny; Mycoplasma; Ecuador; FeLV

1. Introducción

En la actualidad, los animales domésticos, como los felinos, son considerados miembros de núcleos familiares, donde se calcula que la mitad de los hogares en Estados Unidos y Europa los tienen (Chomel, 2014), volviéndolos importantes al momento de la transmisión de varias enfermedades e incluso se considera que funcionan como una vía de amplificación de patógenos que provengan de animales salvajes (Rahman et al., 2020). Esta situación se agrava cuando uno de los animales de compañía más populares a nivel mundial, el felino doméstico, tiene libre acceso al exterior, incrementando su exposición a enfermedades transmisibles entre felinos, por otras especies o vectores, así como a riesgos ambientales como envenenamientos y atropellamientos (Grigg et al., 2023; Tan et al., 2021; Melo et al., 2023). Es así como se puede favorecer a la aparición y propagación de enfermedades zoonóticas, siendo crítico en comunidades agrícolas o rurales, donde el contacto estrecho entre humanos, animales domésticos y fauna silvestre se juntan con un acceso limitado a servicios básicos (Grace & Cook, 2023; Chomel, 2014; Rahman et al., 2020).

Las enfermedades zoonóticas, responsables de cerca del 60 % de patologías que afectan al ser humano, representan la tercera causa de muerte a nivel mundial y un grave problema de salud pública debido a su capacidad de transmisión entre animales y humanos (OMS, 2020; FAO, 2024). Estas son provocadas por una gran variedad de patógenos, incluyendo bacterias, virus, parásitos, hongos, rickettsias, clamidias, protozoos, micoplasmas y agentes acelulares no virales, constituyendo un riesgo significativo las zoonosis bacterianas asociadas al contacto con animales domésticos, siendo un área relativamente descuidada pese al riesgo que representan para poblaciones vulnerables como niños, adultos mayores, embarazadas e inmunocomprometidos (Rahman et al., 2020; Duarte et al., 2014; Damborg, 2016; Novacco et al., 2018). Una de ellas, la micoplasmosis de origen felino, a menudo está subdiagnosticada en humanos, como los casos de *Mycoplasma haemofelis* en un individuo con VIH y otro caso sospechoso de otro paciente humano con lupus eritematoso sistémico (Duarte et al., 2014; Damborg, 2016; Novacco et al., 2018).

Los micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) pertenecientes a la familia *Mycoplasmataceae*, afectan a seres humanos, animales y plantas (Xiu, et al., 2024; Duarte et al., 2014; Faulhaber, et al., 2025). Estas bacterias son responsables de la micoplasmosis felina o también llamada micoplasmosis hemotrópica felina, una enfermedad infecciosa emergente clasificada dentro de las enfermedades transmitidas por vectores en felinos (FVBD), causada principalmente por cuatro especies de *Mycoplasma*, donde se incluyen a *Mycoplasma haemofelis* (Mhf), *Candidatus Mycoplasma turicensis* (CMt), *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (CMhm) y *Mycoplasma haematoparvum-like* (Lobová et al., 2021; Ravagnan et al., 2017; Sykes, 2010; Tasker., 2022; Tasker, 2010; Ceylan et al., 2024; Ameldev & Tresamol, 2018; Ferraz et al., 2024). También se ha identificado a *Mycoplasma haemocanis* (Mhc) y *Mycoplasma wenyonii* que, si bien se creía que eran específicos de caninos y del ganado respectivamente, también se han detectado en felinos lo que podría indicar una transmisión entre especies (Ceylan et al., 2024; Ceylan et al., 2024). Estas bacterias están distribuidas a nivel mundial y su incidencia ha sido reportada en países de Asia, Europa y Norteamérica, pero en Latinoamérica estos valores varían tomando en cuenta las especies identificadas (Yamakawa et al., 2017).

En Ecuador, los datos sobre micoplasmosis felina son limitados, existen estudios donde se ha reportado su presencia en pequeñas poblaciones de felinos domésticos de las ciudades de Guayaquil, Babahoyo, Quito y Galápagos, y también en varias especies silvestres como *Puma yaguarondi*, *Leopardus pardalis*, *Leopardus tigrinus*, *Puma concolor* y *Panthera onca* que fueron admitidas en el Hospital Veterinario de la Universidad San Francisco de Quito (Chiriboga Granja & Maridueña Zavala, 2023; Pizarro Mejía, 2025; Tapia Giler, 2018; Levy et al., 2008; Diaz et al., 2021). Dado que esta bacteria está presente en la sangre de los felinos infectados, puede transmitirse de diferentes maneras, siendo la más común a través de vectores, como los ectoparásitos que se alimentan de sangre, donde las pulgas y las garrapatas juegan un papel fundamental (Ceylan et al., 2024; Carvalho et al., 2024). Además, los mosquitos del género *Aedes* también podrían estar involucrados (Reagan, 2017). Otras formas de transmisión directa incluyen las interacciones agresivas entre felinos y la transmisión vertical dada durante el embarazo, el parto y la lactancia (Ameldev & Tresamol, 2018). También se describe la transmisión iatrogénica por medio de instrumental contaminado o transfusiones sanguíneas (Ravagnan et al., 2017; Ameldev & Tresamol, 2018). La evolución de esta enfermedad se divide en cuatro fases: la primera, de una a tres semanas, abarcando desde la infección hasta la replicación bacteriana inicial, con una disminución del volumen globular aglomerado (VGA), la segunda puede extenderse por un mes o más y se caracteriza por episodios de bacteriemia, un descenso más pronunciado del VGA y signos clínicos evidentes, la gravedad depende tanto del hospedador como de la especie infectante; en la tercera fase, el VGA se normaliza o puede aproximarse a valores de referencia; y ya en la cuarta fase, el individuo infectado se convierte en portador crónico, con posibilidad de reactivación del patógeno ante factores como estrés, comorbilidades o neoplasias (Morales & Martín, 2022). Existen algunas especies que rara vez producen manifestaciones graves y pueden estar asociadas con la disminución de glóbulos rojos como lo es *Candidatus M. haemominutum* mientras que otras, como *Candidatus M. turicensis*, causan descenso en el volumen de células empaquetadas (PCV), y *Mycoplasma haemofelis*, una de las más patógenas, puede provocar anemia hemolítica, con síntomas como mucosas pálidas, deshidratación, pérdida de peso, anorexia, letargo, ictericia, esplenomegalia, linfadenopatía y, en casos graves, muerte súbita por descenso del Volumen Globular Aglomerado (VGA) y bacteriemia generalizada, aunque también la posibilidad de presentarse infecciones asintomáticas (Tasker, 2010; Ravagnan et al., 2017; Morales & Martín, 2022; Ferraz et al., 2024).

La detección de *Mycoplasma* a través del frotis sanguíneo es el método más utilizado en la clínica diaria, donde la baja especificidad y sensibilidad de esta técnica generan errores de diagnóstico (Hawley et al., 2018; Jenkins et al., 2013; Torres Angulo, 2023; Razgūnaitė et al., 2024; Morales & Martín, 2022; Ceylan et al., 2024). Habría que acotar que el hemocultivo de estas bacterias tienen requerimientos muy estrictos imposibilitando su desarrollo, por lo que debido a las limitaciones de estas técnicas, la PCR resulta la más eficaz para su diagnóstico, investigación e incluso la descripción de nuevas especies, además se menciona la evaluación de genotipos compartidos de *Mycoplasma* a través de la secuenciación del gen 16S rRNA (Razgūnaitė et al., 2024; Jenkins et al., 2013; European Advisory Board for Cat Diseases, 2024; Hawley et al., 2018; Morales & Martín, 2022; Ceylan et al., 2024; Sykes J. E., 2010; Sacristán et al., 2019). En cuanto al tratamiento, si este no es administrado a tiempo puede resultar en consecuencias fatales, dado que esta bacteria carece de paredes celulares, posee resistencia inherente a antibióticos que actúan sobre la pared celular como los betalactámicos y glicopéptidos, por lo que el tratamiento de elección comienza con doxiciclina, y si la bacteriemia persiste, se recomienda el cambio a marbofloxacina u oxitetraciclina, siempre acompañado de un seguimiento de las cargas bacterianas mediante PCR en tiempo real (Razgūnaitė et al., 2024; Barker, 2019; Novacco et al., 2018; Çetin et al., 2021).

Por otro lado, es importante mencionar que la infección por *Mycoplasma* puede complicarse cuando los felinos coinfectan con otros patógenos, como la *Leucemia Viral Felina (FeLV)*, un

gamma retrovirus que, al igual que otros. Al no causar muerte celular durante su replicación, se integra en el ADN del hospedador, afecta la médula ósea causando inmunosupresión (Hartmann & Hofmann-Lehmann, 2020). Esta enfermedad se transmite principalmente por fluidos corporales como saliva, orina y heces, además de poder propagarse por mordeduras, lamidos, transfusiones y, aunque no comprobado, también se ha detectado ARN en pulgas y sus heces (Hartmann & Hofmann-Lehmann, 2020; Little et al., 2020; Rungsuriyawiboon et al., 2022; Moore et al., 2024). La coexistencia de estos dos patógenos en felinos, *Mycoplasma* spp. y el *Virus de la Leucemia Felina*, se considera un factor de riesgo, ya que podría exacerbar la gravedad de la enfermedad, y viceversa, dado que el *Mycoplasma* es una enfermedad de carácter oportunista (Demkin & Kazakov, 2021; Ferraz et al., 2024).

Dada la inmunosupresión producida por el virus, el hemotrópico puede generar anemias significativas o inducir trastornos de la médula ósea complicando el cuadro clínico y el tratamiento (Tasker, 2010; Lobová et al., 2021; Morales & Martín, 2022; Yamakawa et al., 2017). En América, estudios realizados en Brasil reportan una prevalencia de coinfección entre *Mycoplasma* y *Leucemia Viral Felina (FeLV)* de entre 1.4 % y 9.4 %, mientras que en Estados Unidos se ha registrado un 4.5 % (da Rosa Maciel et al., 2022). En 2024, se reportó que 34.571 hogares ecuatorianos tienen felinos domésticos y existen 73.628 hogares con al menos un canino o un felino, esta creciente expansión y el surgimiento continuo de patógenos en todo el mundo resaltan la importancia del diagnóstico, tratamiento e implementación de medidas de control (Forbes, 2024; Ceylan et al., 2024; Imre et al., 2020). Estos factores socioeconómicos, climáticos y antropogénicos favorecen una mayor diversidad de patógenos y, en consecuencia, una mayor variabilidad y severidad clínica en animales o en humanos (Berzina et al., 2021). La prevalencia de *Leucemia Viral Felina (FeLV)* no está definida en Ecuador, aunque se sabe que se realizó un estudio observacional en el Distrito Metropolitano de Quito donde se obtuvo una prevalencia de 15,07% en el periodo 2012-2024 y otro estudio retrospectivo donde se observó una prevalencia de 28.59% en el periodo septiembre 2021 y diciembre 2024 (Puga-Torres, Navarrete, & de la Torre, 2025), y en Cuenca se determinó un 34% en una población pequeña (Castro Carangui, 2022; Yáñez-Ortiz et al., 2024). Pero de la coinfección sólo se sabe que en Guayaquil, fue reportada en un 70% utilizando frotis sanguíneo para la detección de *Mycoplasma* spp. y análisis de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) para la *Leucemia Viral Felina (FeLV)* en una población de 100 felinos domésticos (Valle-Mieles et al., 2022).

Tomando en cuenta la premisa de que la *Leucemia Viral Felina* afecta a un porcentaje considerable de la población felina del Distrito Metropolitano de Quito, siendo el 28,59% en los últimos 3 años (Puga-Torres, Navarrete, & de la Torre, 2025). Añadiendo la evidencia previa que sugiere una alta prevalencia de coinfección entre *Mycoplasma* spp. y *FeLV* en felinos domésticos inmunocomprometidos en distintas regiones del mundo (da Rosa Maciel et al., 2022; Demkin & Kazakov, 2021; Bergmann et al., 2017). Y que, en el Distrito Metropolitano de Quito, los datos moleculares sobre esta relación son limitados. Este estudio tiene como objetivo investigar la presencia y diversidad genética de *Mycoplasma* en felinos domésticos infectados con *Leucemia Viral Felina (FeLV)* en el Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), mediante herramientas de epidemiología molecular. Esto permitirá comparar su diversidad genética a través del análisis del gen 16S ribosomal, respondiendo a la necesidad de generar datos específicos sobre coinfecciones entre *Mycoplasma* y *FeLV*, donde se presume que *Mycoplasma haemofelis* podría ser la especie dominante, por su vinculación con cuadros clínicos graves en felinos.

La identificación y genotipificación de este patógeno permitirá obtener información actualizada estos patógenos no reportados, en conjunto con la epidemiología molecular mediante análisis filogenéticos, se puede proyectar en crear conciencia en tutores y profesionales de la salud animal y humana, tomando en cuenta también el potencial zoonótico de estos agentes (Imre et al., 2020; Sacristán et al., 2019; Ceylan et al., 2024; Berzina et al., 2021).

2. Materiales y Métodos

1. Área de Estudio

En Ecuador, ubicada en el centro norte del territorio nacional, en la provincia de Pichincha, se encuentra la ciudad de Quito, en medio de la cordillera de los Andes a una altitud de aproximadamente 2.850 metros sobre el nivel del mar, es la segunda capital más alta del mundo, con una superficie de 4.183 km², unos 2.2 millones de habitantes y una temperatura que varía entre 10 y 25 °C. Para este estudio se incluyó un muestreo por conveniencia de felinos domésticos que asistieron a centros veterinarios del Distrito Metropolitano de Quito (parroquias Centro Histórico, Chimbacalle, El Inca, La Magdalena, Pomasqui, San Bartolo, San Juan, Solanda, Turubamba, Cumbaya, Tumbaco y Calderón) entre mayo de 2025 y agosto de 2025. El Comité de Ética en el Uso de Animales en Investigación y Docencia de la USFQ aprobó el estudio, con el número de resolución 2025-003.

1.1. Tamaño muestral

Debido a la naturaleza exploratoria del estudio y a la limitada disponibilidad de felinos infectados con *Leucemia Viral Felina* en el área, se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se incluyeron 20 individuos que cumplieron los criterios de selección durante el periodo de muestreo.

1.1.1. Criterios de selección

Los felinos incluidos en el estudio contaron con un diagnóstico positivo para el virus de la *Leucemia Viral Felina (FeLV)*, confirmado mediante pruebas como ELISA, test rápido por inmunocromatografía o PCR. Aquellos individuos que no se hubieran realizado ninguna de estas pruebas o que presentaran un resultado negativo fueron excluidos. Además, para su procesamiento, las muestras sanguíneas debían ser recolectadas en tubos con tapa lila (EDTA), con un volumen mínimo de 0,5 mL. No se aceptaron muestras obtenidas en otros tipos de tubos.

1.2. Población de estudio

Los felinos domésticos fueron llevados a diferentes establecimientos de salud veterinaria del Distrito Metropolitano de Quito para un examen preventivo o debido a diversos padecimientos, donde después de la detección de la infección de *Leucemia Viral Felina (FeLV)* fueron invitados a permitir la toma de muestra a sus felinos para el estudio. Los médicos a cargo de estas muestras llenaron un formulario identificando con un código al paciente, sin incluir datos personales como contacto, direcciones o nombres, se adjuntó la siguiente información en el mismo formulario el método de detección previa de *FeLV* (PCR, ELISA, test rápido), la edad (años), sexo, estado reproductivo (entero, castrado), estilo de vida (dentro de casa, acceso controlado, de exteriores), presencia de ectoparásitos, recepción de transfusiones sanguíneas, presencia o ausencia de signos clínicos, enfermedades preexistentes y convivencia/contacto con otras especies. Para la toma de muestra se siguieron las directrices del AAFP/ISFM Cat Friendly Veterinary Interaction Guidelines donde se evita la hiperextensión del codo y se proporciona una toalla o cobija suelta para los felinos que prefieran cubrir su cabeza, se tomaron muestras de sangre de la vena cefálica en tubos con EDTA y se mantuvieron a -5 °C hasta la extracción de ADN. Como controles positivos a *Mycoplasma* spp. se recibieron 7 muestras por parte de los laboratorios Diagnovet y GENEPET.

2. Aislamiento de ADN

La extracción del ADN a partir de las muestras sanguíneas en EDTA se realizó con un kit comercial de aislamiento de ADN (QIAamp® DSP DNA Blood Mini), siguiendo las instrucciones de la casa comercial. El ADN obtenido se almacenó a -30 °C hasta su uso en análisis moleculares. Las concentraciones de ADN extraído fueron medidas en el fluorómetro (Invitrogen Qubit 4 Fluorometer, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos).

3. PCR - Nested, punto final

Se realizó una PCR anidada (nested PCR, nPCR) en dos rondas para la detección del ARNr 16S de *Mycoplasma* spp. donde para la primera amplificación, se utilizaron el cebador forward Myco184-F1 y reverse Myco1310-R1 previamente descritos por Kaewmongkol et al. (2020) (Véase Tabla 1) con la mezcla de reacción de PCR para cada muestra se preparó utilizando Taq polimerasa (Dream Taq DNA Polymerase, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos), el buffer (10x Dream Taq Green, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos), dNTPs (BioGENA, Quito, Ecuador). Se realizó una dilución previa de las muestras (2 µL de ADN más 2 µL de agua ultrapura). La amplificación inició con una desnaturalización a 95 °C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos de 95 °C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos de 95 °C por 1 minuto, alineamiento a 55 °C por 1 minuto y extensión a 72 °C por 1.30 minutos finalizando con una extensión final a 72 °C por 10 minutos, dando un producto de un aproximado de 1000 pb.

Tras el final de la primera reacción, 1 µL del producto de la primera PCR de las muestras se utilizó como molde para la segunda ronda de amplificación. Esta segunda ronda se llevó a cabo con los cebadores internos Myco322-F2 y Myco938-R2, donde se mantuvo la misma composición de la mezcla de reacción y las condiciones de termociclado tuvieron un cambio en la etapa de hibridación a 60 °C por 1 minuto y en la extensión a 72 °C por 45 segundos. Los productos de la segunda ronda se analizaron en un gel de agarosa al 1.2%, en una electroforesis de 1 hora y 15 minutos, para la tinción se utilizó un marcador (TrackIt™ 100 bp DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos) para confirmar la presencia de un amplicón de 600 pb.

Tabla 1. Cebadores utilizados en PCR para la detección de *Mycoplasma* spp.

Cebador	Ciclo de nPCR	Secuencia	Referencia
Myco184-F1	Primera ronda	ACCAAGSCRATGATRGRTAGCTGG	Kaewmongkol et al. 2020
Myco1310-R1		ACRGGATTACTAGTGATTCCAACCTCAA ¹	
Myco322-F2	Segunda ronda	GCCCATATTCCTACGGGAAGCAGCAGT	
Myco938-R2		CTCCACCACTTGTCAGGTCCCCGTC	

¹ Nota. Adaptado de "Investigation of hemotropic *Mycoplasma* spp. genotypes in client-owned cats in Thailand", por S. Kaewmongkol, N. Lakhana, T. Sirinarumitr, S. G. Fenwick y G. Kaewmongkol, 2020, *Veterinary Microbiology*, 247, 108765. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108765>.

4. Secuenciación Sanger

Para la secuenciación se seleccionaron amplicones de PCR que presentaban bandas claras y fuertes en el gel de agarosa, estas fueron escindidas del gel para ser purificadas mediante un kit de purificación (QIAquick Gel Extraction Kit, QIAGEN, Hilden, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN purificado se utilizó para secuenciación por capilares tipo Sanger, servicio tercerizado en un laboratorio privado de la ciudad de Quito.

Estos productos fueron secuenciados en ambas direcciones (forward y reverse). Para la reacción de secuenciación se utilizaron los primers Myco322-F2 (5'-GCCCATATTCCTACGGGAAGCAGCAGT-3') y Myco938-R2 (5'-CTCCACCACTTGTTTCAGGTCCCCGTC-3'), cada uno a una concentración de 2 pmol/μL.

Las muestras presentaron un promedio de concentración de 54 ng/μL, con un volumen total de 20 μL, correspondiente a un fragmento amplificado de aproximadamente 600 pb. Ambos primers presentaron una temperatura de melting (Tm) de 60 °C. Una vez obtenidos los cromatogramas, fueron evaluados, editados y ensamblados utilizando el software GeneStudio 2.2.0000 (GeneStudio Inc). Las regiones de baja calidad fueron recortadas y las lecturas forward y reverse fueron ensambladas para generar las secuencias consenso. En los casos en que las secuencias se encontraban en orientación inversa, estas fueron reorientadas mediante la herramienta Nucleic Acid Sequence “Massager” (Universidad de Alcalá), previo a su inclusión en los análisis filogenéticos.

5. Análisis bioinformático y filogenético

Las secuencias consenso obtenidas fueron comparadas con secuencias disponibles en la base de datos GenBank mediante la herramienta BLASTn (Altschul, et al., 1990), con el fin de confirmar la identidad del agente y seleccionar secuencias de referencia filogenéticamente relacionadas. Para el análisis comparativo, se seleccionaron secuencias representativas de cada especie de hemoplasma felino con altos porcentajes de identidad (>97%) y cobertura superior al 90% (Véase Tabla 2), priorizando aquellas con longitud comparable al fragmento amplificado y adecuada calidad de anotación taxonómica. Asimismo, se incluyeron secuencias correspondientes a hemoplasmas de otras especies animales (caninos, bovinos, ovinos y porcinos) con el propósito de evaluar la divergencia interespecífica y la estructuración evolutiva del grupo.

Las secuencias seleccionadas fueron posteriormente alineadas junto con las obtenidas en este estudio y utilizadas para los análisis filogenéticos y el cálculo de divergencia genética empleando el software (Kumar et al., 2024). Se seleccionó *Tsukamurella* spp. como grupo externo debido a que pertenece a un género bacteriano filogenéticamente distante del género *Mycoplasma*, lo que permite establecer una polarización adecuada del árbol filogenético sin interferir en la estructura interna del ingroup. Esta elección se fundamentó en su separación evolutiva clara, así como en la disponibilidad de secuencias del gen ARNr 16S comparables en longitud y calidad con las secuencias analizadas en este estudio. La inclusión de *Tsukamurella* spp. permitió enraizar el árbol de manera estable y confirmar la correcta delimitación de los clados correspondientes a los hemoplasmas felinos.

Tabla 2. Secuencias de referencia obtenidas de GenBank utilizadas en el análisis filogenético.

Número de acceso GenBank	Especie
PQ471487.1	<i>Mycoplasma haemofelis</i>
PP894221.1	<i>Mycoplasma haemofelis</i>
OQ361734.1	<i>Mycoplasma haemofelis</i>
OQ361731.1	<i>Mycoplasma haemofelis</i>
MT926038.1	<i>Mycoplasma haemofelis</i>
MT345534.1	<i>Mycoplasma haemocanis</i>
MN240855.1	<i>Mycoplasma haemofelis</i>
MH447082.1	<i>Mycoplasma haemofelis</i>
KR905465.1	<i>Mycoplasma haemofelis</i>
KJ858513.1	<i>Mycoplasma haemocanis</i>
KT985638.1	<i>Candidatus Mycoplasma haematobovis</i>
KJ883517.1	<i>Candidatus Mycoplasma haemobos</i>
KR905460.1	<i>Candidatus Mycoplasma turicensis</i>
KM275258.1	<i>Candidatus Mycoplasma turicensis</i>
JQ689949.1	<i>Candidatus Mycoplasma turicensis</i>

AY831867.1	<i>Mycoplasma</i> sp. 'feline hemotropic
PV593553.1	Candidatus <i>Mycoplasma haematominutum</i>
OQ361760.1	Candidatus <i>Mycoplasma haematominutum</i>
KR905453.1	Candidatus <i>Mycoplasma haematominutum</i>
PQ471489.1	Candidatus <i>Mycoplasma haematominutum</i>
KY117662.1	Candidatus <i>Mycoplasma haematoparvum</i>
MZ043581.1	<i>Mycoplasma wenyonii</i>
LC848342.1	<i>Mycoplasma wenyonii</i>
LC848324.1	<i>Mycoplasma ovis</i>
MK287839.1	<i>Mycoplasma suis</i>
MK287838.1	<i>Mycoplasma parvum</i>
NR_029181.1	<i>Mycoplasma feliminutum</i>
NR_025965.1	<i>Mycoplasma leonicaptivi</i>
NR_025964.1	<i>Mycoplasma simbae</i>
NR_025963.1	<i>Mycoplasma mopsis felifaucium</i>
NR_025966.1	<i>Mycoplasma leopharyngis</i>
EU086531.1	<i>Tsukamurella pulmonis</i>
HE585566.1	<i>Tsukamurella tyrosinosolvens</i>

6. Análisis estadístico

Los datos recolectados de cada individuo, proporcionados por distintos establecimientos veterinarios del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), fueron registrados en una base de datos estructurada. Previo al análisis estadístico, se evaluó la normalidad de las variables cuantitativas mediante la prueba de Shapiro–Wilk. Dado que los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad, se emplearon pruebas no paramétricas para el análisis comparativo.

Para evaluar la distribución de las especies de *Mycoplasma* spp. detectadas en la población felina positiva, se utilizaron pruebas de asociación para variables categóricas, empleándose la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario debido al tamaño reducido de algunas categorías. La comparación de la edad entre grupos definidos por la especie de *Mycoplasma* identificada se realizó mediante la prueba de Wilcoxon de rangos sumados.

Todos los análisis estadísticos y representaciones gráficas fueron realizados en el programa RStudio versión 2024.04.1+729 (RStudio Team, 2022), considerándose un nivel de significancia estadística de $p < 0.05$.

3. Resultados

3.1. Detección molecular por nPCR

Se analizó un total de 20 muestras de sangre de felinos domésticos de 11 parroquias del Distrito Metropolitano de Quito mediante una PCR anidada (nested PCR) para detectar el gen 16S rRNA. De las 20 muestras analizadas, en 16 (80%) resultaron positivas para la presencia de ADN bacteriano en la segunda ronda de amplificación. Estos productos de la PCR se visualizaron en geles de agarosa donde se confirmó la presencia de un amplicón con el tamaño esperado de aproximadamente 600 pb (véanse Figuras 1, 2 y 3). En algunas muestras se observaron bandas adicionales de mayor y menor peso molecular, las cuales podrían corresponder a amplificaciones inespecíficas o a productos secundarios de la reacción. No obstante, el fragmento de 600 pb fue el predominante y consistente en todos los casos considerados positivos.

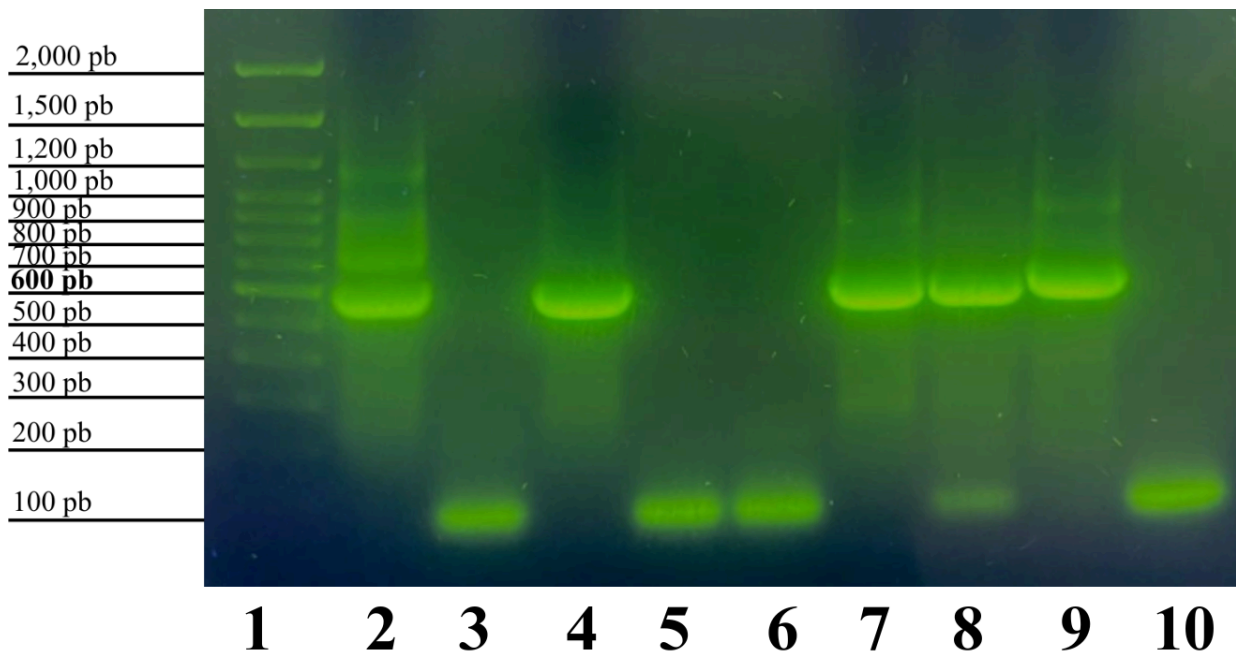


Figura 1. Detección molecular de *Mycoplasma* spp. en felinos domésticos utilizando cebadores Myco322-F2 y Myco938-R2. Carril 1: Marcador de peso molecular de 100 pb. Carril 2: Muestra G1 de Parroquia La Magdalena. Carril 3: Muestra G3 de Parroquia Turubamba. Carril 4: Muestra G5 de Parroquia Turubamba. Carril 5: Muestra G7 de Parroquia San Bartolo. Carril 6: Muestra G9 de Parroquia Centro Histórico. Carril 7: Muestra G11 de Parroquia Chimbacalle. Carril 8: Muestra G13 de Parroquia Centro Histórico. Carril 9: Control positivo (Genepetlab). Carril 10: H₂O.

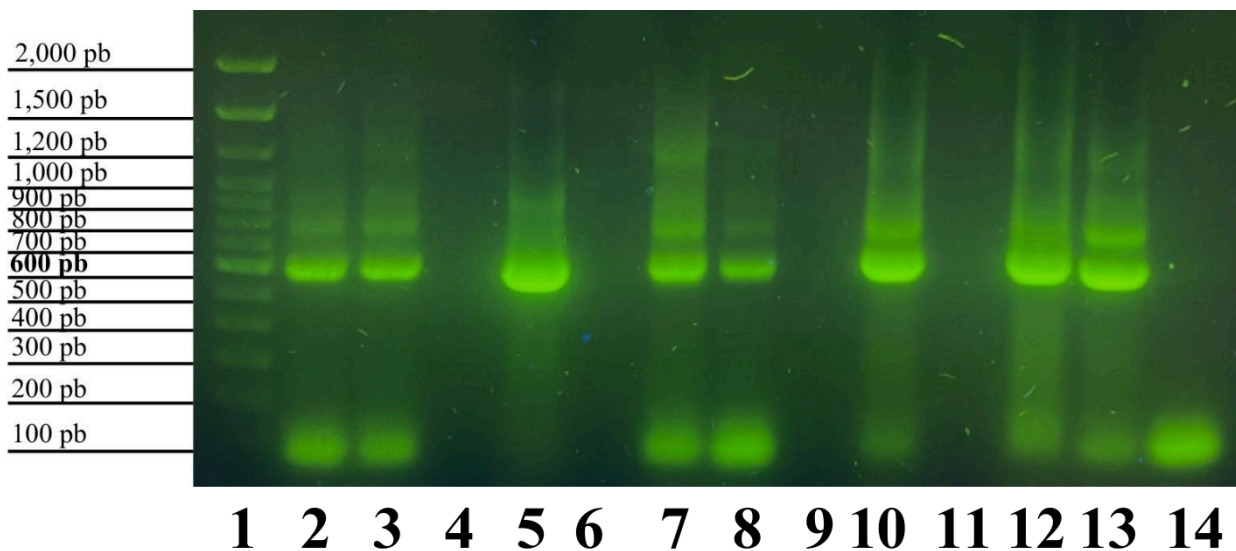


Figura 2. Detección molecular de *Mycoplasma* spp. en felinos domésticos utilizando cebadores Myco322-F2 y Myco938-R2. Carril 1: Marcador de peso molecular de 100 pb. Carril 2: Muestra G15 de Parroquia San Isidro de El Inca. Carril 3: Muestra G17 de Parroquia San Isidro de El Inca. Carril 4: Carril vacío. Carril 5: Muestra G19 de Parroquia Pomasqui. Carril 6: Carril vacío. Carril 7: Muestra G21 de Parroquia Centro Histórico. Carril 8: Muestra G23 de Parroquia Centro Histórico. Carril 9: Carril vacío. Carril 10: Muestra G25 de Parroquia Pomasqui. Carril 11: Carril vacío. Carril 12: Muestra G27 de Parroquia Tumbaco. Carril 13: Control positivo (Genepetlab). Carril 14: H₂O.

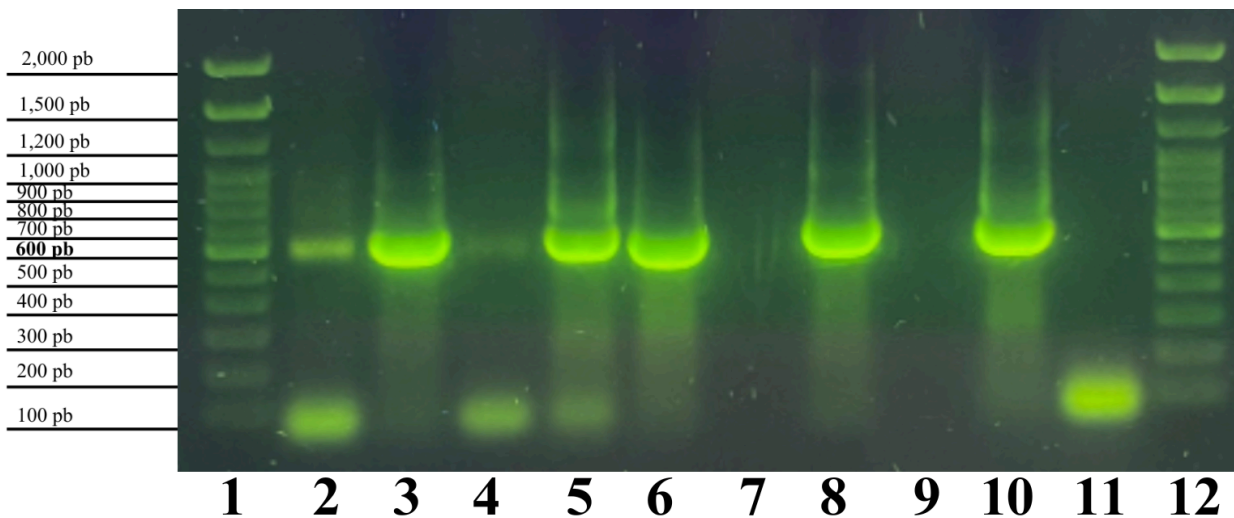


Figura 3. Detección molecular de *Mycoplasma* spp. en felinos domésticos utilizando cebadores Myco322-F2 y Myco938-R2. Carril 1: marcador de peso molecular de 100 pb. Carril 2: Muestra G29 de Parroquia Chimbacalle. Carril 3: Muestra G31 de Parroquia La Libertad. Carril 4: Muestra G33 de Parroquia Tumbaco. Carril 5: Muestra G35 de Parroquia Cumbaya. Carril 6: Muestra G37 de Parroquia Cumbaya. Carril 7: Carril vacío. Carril 8: Muestra G39 de Parroquia Valle de los Chillos. Carril 7: Carril vacío. Carril 9: Control positivo (Genepetlab). Carril 11: H2O. Carril 12: marcador de peso molecular de 100 pb.

3.2. Bioinformática y Análisis Filogenético

El análisis preliminar de las secuencias consenso mediante BLASTn permitió determinar que ocho de las secuencias obtenidas presentaron altos porcentajes de identidad y cobertura (>97%) con especies del género *Mycoplasma*, confirmando su asignación taxonómica preliminar. Sin embargo, otras ocho secuencias mostraron mayor identidad con bacterias del género *Stenotrophomonas*. Este hallazgo sugiere que el marcador molecular utilizado, correspondiente al gen ARNr 16S, no posee resolución suficiente para discriminar con precisión ciertos géneros bacterianos estrechamente relacionados o potencialmente presentes en coinfección, lo que limita la posibilidad de realizar un análisis filogenético detallado para dichas secuencias. En consecuencia, únicamente las secuencias confirmadas como *Mycoplasma* spp. fueron incluidas en los análisis filogenéticos posteriores.

El análisis de selección de modelo realizado en el software MEGA 12 (Kumar et al., 2024) indicó que el modelo evolutivo que mejor se ajustó a los datos, según el criterio de información bayesiano (BIC), fue Kimura de dos parámetros con distribución Gamma (K2+G), evidenciando heterogeneidad en las tasas de sustitución entre sitios. La inclusión de una proporción de sitios invariantes (+I) no mejoró significativamente el ajuste del modelo. La reconstrucción filogenética mediante los métodos de Máxima Parsimonia (MP) y Máxima Verosimilitud (ML), bajo el modelo K2+G, produjo topologías idénticas, lo que demuestra consistencia y estabilidad en la señal filogenética del conjunto de datos. El análisis incluyó 41 secuencias y un total de 434 posiciones nucleotídicas alineadas.

Se obtuvieron tres clados monofiléticos bien definidos en el árbol filogenético correspondientes a *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haematominutum* y *Candidatus Mycoplasma turicensis*. Cada uno de estos clados presentó valores elevados de soporte bootstrap, con nodos principales de $\geq 70\%$ y varios alcanzando el 100%, lo que respalda fuertemente su delimitación filogenética.

Ocho de las secuencias obtenidas del presente estudio se agruparon consistentemente dentro de sus respectivos clados de referencia. Las muestras locales asignadas a *M. haemofelis*, detectado en el 25% (5/20) de los felinos analizados, se integraron dentro del clado correspondiente junto con secuencias que se encontraban en GenBank, mostrando alta cohesión genética. De manera similar, las secuencias correspondientes a *Candidatus M. haematominutum*, identificado en el 15% (3/20) de los individuos evaluados, formaron un clado independiente con alto soporte estadístico. No se detectaron aislamientos correspondientes a *Candidatus M. turicensis* en la población estudiada; sin embargo, esta especie se recuperó como una unidad filogenética claramente diferenciada dentro del árbol construido con secuencias de referencia.

Las secuencias asociadas a bovinos, ovinos y porcinos se agruparon en linajes separados de las secuencias asociadas a felinos, evidenciando divergencia evolutiva entre taxones asociados a distintos hospedadores. El grupo externo (*Tsukamurella* spp.) se ubicó basalmente respecto a todos los taxones analizados, mostrando una clara separación del ingroup y confirmando la correcta polarización del árbol filogenético.

En conjunto, la topología obtenida y los altos valores de soporte bootstrap indican una estructura filogenética robusta y congruente entre los métodos de inferencia utilizados como se observa en el árbol filogenético construido con las secuencias obtenidas en el estudio, se presenta en la Figura 4.

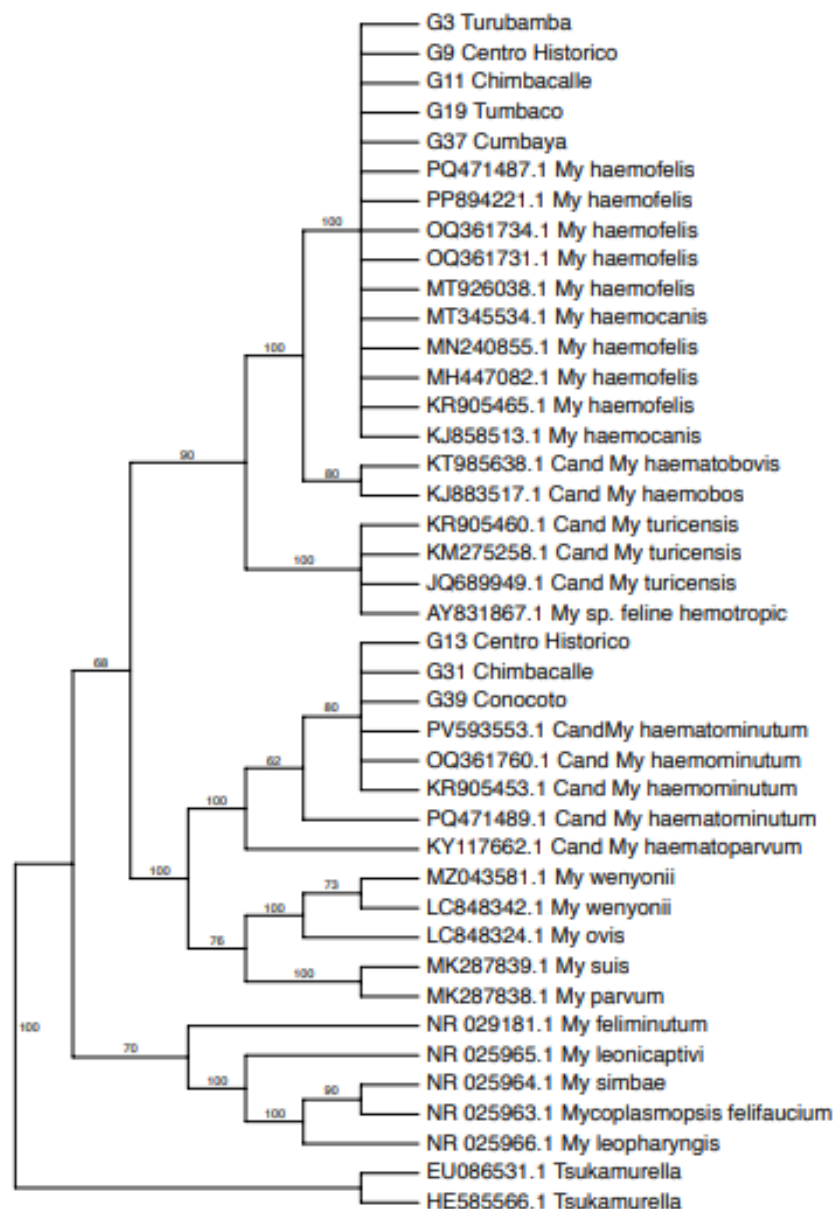


Figura 4. Filograma de máxima verosimilitud inferido a partir de secuencias parciales del gen ARNr 16S de *Mycoplasma* spp. El árbol filogenético fue construido utilizando el modelo Kimura de dos parámetros con distribución Gamma (K2+G), seleccionado mediante el criterio de información bayesiano (BIC). Los valores en los nodos indican el porcentaje de soporte bootstrap.

Durante el análisis de las secuencias obtenidas mediante amplificación del gen ARNr 16S, se observó que siete de las secuencias 35% (7/20) generadas no presentaron mayor similitud con especies del género *Mycoplasma*. El análisis de identidad mediante BLASTn reveló que estas secuencias mostraron altos porcentajes de identidad con bacterias pertenecientes al género *Stenotrophomonas*, principalmente *Stenotrophomonas maltophilia*, así como con otras secuencias clasificadas como *Stenotrophomonas* spp. Debido a esta asignación taxonómica, dichas secuencias fueron excluidas de los análisis filogenéticos dirigidos a *Mycoplasma* spp., los cuales se realizaron únicamente con las secuencias que presentaron alta identidad con especies de este género.

3.3. Análisis de factores de riesgo

Los hallazgos obtenidos en este estudio fueron evaluados estadísticamente considerando diversos parámetros demográficos, clínicos y epidemiológicos. La normalidad de las variables continuas fue evaluada mediante la prueba de Shapiro–Wilk, evidenciándose que la edad no siguió una distribución normal ($p < 0,05$) por lo que se aplicaron pruebas estadísticas no paramétricas.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la edad de los felinos según el estado reproductivo (prueba de Kruskal–Wallis, $\chi^2 = 3,79$; $gl = 3$; $p = 0,28$). Dado que el 100% de los individuos evaluados presentó infestación por pulgas, no fue posible evaluar asociaciones estadísticas relacionadas con la presencia de ectoparásitos.

Las asociaciones entre variables categóricas se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher. Se identificó una asociación estadísticamente significativa entre la convivencia con otros felinos y la presencia de interacciones agresivas ($p = 0,027$), observándose una mayor frecuencia de conductas agresivas en los felinos que conviven con otros de su misma especie. Asimismo, se evidenció una asociación significativa entre la especie de *Mycoplasma* identificada y la presencia de interacciones agresivas felinas ($p = 0,032$).

No se detectaron asociaciones estadísticamente significativas entre la infección por *Mycoplasma* spp. y las demás variables evaluadas.

3.4. Correlación de la bacteriemia con signos clínicos

De los 20 felinos positivos a *Leucemia Viral Felina*, el 40% (8/20) presentó coinfección con *Mycoplasma* spp. La mayoría de los casos correspondió a felinos menores de cuatro años y a machos. Asimismo, casi la totalidad de los individuos coinfectados tenía algún tipo de acceso al exterior y todos presentaron antecedente de infestación por pulgas (Véase Tabla 3).

Tabla 3. Características demográficas, clínicas y moleculares de los felinos *FeLV* positivos coinfectados con *Mycoplasma* spp. ($n = 8$).

Variable	Categoría	n (%)
Coinfección en <i>FeLV</i> (n=20)	Positivos a <i>Mycoplasma</i> spp.	8 (40)
Edad (años)	Rango	1–7
	< 4 años	5 (62,5)
Sexo	Machos	5 (62,5)
	Hembras	3 (37,5)
Estado reproductivo	Macho entero	3 (37,5)
	Macho castrado	1 (12,5)
	Hembra esterilizada	2 (25)
	Hembra entera	1 (12,5)
Estilo de vida	Acceso exterior (libre/controlado)	7 (87,5)
	Interior exclusivo	1 (12,5)
Antecedente de pulgas	Sí	8 (100)

Signos clínicos	Anemia / alteraciones mucosas	2 (25)
	Enfermedad cavidad oral	2 (25)
	Vómitos	2 (25)
	Letargia	1 (12,5)
	Lesiones / caquexia	1 (12,5)
	Clínicamente sano	1 (12,5)

La secuenciación molecular permitió identificar *Mycoplasma haemofelis* como la especie predominante, en cinco individuos (62,5%; 5/8), mientras que el restante corresponde a *Candidatus Mycoplasma haematominutum* (37,5%; 3/8). Los casos de *M. haemofelis* se asociaron principalmente con acceso al exterior y presentaron con mayor frecuencia alteraciones hematológicas y vómitos (Véase Tabla 4).

Tabla 4. Características clínicas y epidemiológicas de felinos con *Mycoplasma haemofelis* (n = 5).

Variable	Categoría	n (%)
Estilo de vida	Exterior libre	4 (80,0)
	Acceso controlado	1 (20,0)
	Interior exclusivo	1 (20,0)*
Signos clínicos	Anemia / mucosas alteradas	2 (40,0)
	Vómitos	2 (40,0)
	Letargia	1 (20,0)
	Enfermedad cavidad oral	1 (20,0)
	Lesiones por pelea	1 (20,0)
	Clínicamente sano	1 (20,0)

Por otra parte, los individuos infectados con *Candidatus M. haematominutum* mostraron en mayor proporción caquexia y lesiones asociadas a peleas, además de antecedentes comunes de acceso al exterior y presencia de pulgas (Véase Tabla 5).

Tabla 5. Características clínicas y epidemiológicas de felinos con *Candidatus Mycoplasma haematominutum* (n = 3).

Variable	Categoría	n (%)
Estilo de vida	Acceso al exterior	3 (100)
Antecedente de pulgas	Sí	3 (100)

Signos clínicos	Caquexia	2 (66,7)
	Lesiones por pelea	2 (66,7)
	Anemia / mucosas alteradas	1 (33,3)
	Letargia	1 (33,3)
	Síncope y deshidratación	1 (33,3)
	Enfermedad cavidad oral	1 (33,3)

4. Discusión

En este estudio se realizó la detección molecular de *Mycoplasma* spp. en felinos domésticos del Distrito Metropolitano de Quito utilizando una PCR anidada para el gen 16S rRNA donde la micoplasmosis se detectó en felinos domésticos de un rango de edad amplio, con predominio en animales jóvenes de 1 a 4 años. Al igual que Ceylan et al. (2024) no se encontró una relación significativa entre la prevalencia de *Mycoplasma* spp. y la raza o el sexo de los felinos domésticos ($p > 0,05$), sin embargo, se coincide parcialmente con Ceylan et al. (2024) y Valle-Mieles et al. (2024) que observaron que la edad y la condición de los felinos domésticos influyeron en la distribución de la infección ($p < 0,05$), cabe mencionar que tuvo una mayor prevalencia en machos y felinos domésticos mayores de un año.

Se determinó una prevalencia del 40% (8/20) de coinfección por *Mycoplasma* spp. en felinos positivos a *Leucemia viral felina (FeLV)* del Distrito Metropolitano de Quito. Este porcentaje debe interpretarse en el contexto de la población muestreada, compuesta exclusivamente por animales previamente diagnosticados con *FeLV*, lo cual representa un grupo inmunocomprometido y, por tanto, con mayor susceptibilidad a infecciones oportunistas. En este sentido, la prevalencia observada no refleja necesariamente la circulación de hemoplasmas en la población felina general, sino específicamente en un subgrupo clínicamente vulnerable.

A nivel nacional, la información sobre micoplasmosis felina en Ecuador es limitada y se restringe principalmente a estudios realizados en pequeñas poblaciones de felinos domésticos en ciudades como Guayaquil, Babahoyo, Quito y Galápagos (Levy et al., 2008; Tapia Giler, 2018; Chiriboga Granja & Maridueña Zavala, 2023; Díaz et al., 2021; Pizarro Mejía, 2025). Estos antecedentes confirman la circulación de estos patógenos tanto en ambientes urbanos como en fauna silvestre, lo que sugiere una dinámica epidemiológica amplia en el país. Sin embargo, la mayoría de los estudios nacionales han evaluado poblaciones generales sin discriminar estatus retroviral, lo que podría explicar prevalencias menores en comparación con el 40% observado en el presente estudio.

En comparación con estudios internacionales, la prevalencia de coinfección por *Mycoplasma* spp. y *Virus de la Leucemia Felina* (40%) observada en el presente estudio es considerablemente superior a la reportada en la mayoría de investigaciones realizadas en otras regiones. Da Rosa Maciel et al. (2022) señalan que en Brasil la prevalencia de coinfección *Mycoplasma-FeLV* ha oscilado entre 1,4% y 9,4% en los últimos 15 años, mientras que Demkin y Kazakov (2021) describieron en Rusia una frecuencia de coinfección del 2,2% en gatos positivos a *FeLV*. La diferencia observada en el presente estudio debe interpretarse considerando el diseño muestral y la población evaluada. En varios de estos estudios, la coinfección se estimó sobre poblaciones felinas generales, mientras que en el presente trabajo la muestra estuvo

compuesta exclusivamente por gatos previamente diagnosticados con *FeLV*, lo que modifica el denominador epidemiológico y puede incrementar la proporción relativa de *Mycoplasma*. Sin embargo, las comparaciones deben realizarse con cautela debido a diferencias metodológicas, particularmente en los cebadores empleados, las regiones amplificadas del gen 16S rRNA y los criterios de inclusión clínica de los animales.

Un hallazgo relevante del presente estudio fue la detección de secuencias con alta identidad al género *Stenotrophomonas*, bacilos gramnegativos no fermentadores (NFGNB) que se encuentran ubicuamente en ambientes como el suelo, el agua, las rizosferas de las plantas y los cuerpos de animales y humanos (Rajeev et al., 2025). Aunque el marcador 16S rRNA no permitió una caracterización más detallada a nivel de especie (de Souza et al., 2025), este resultado sugiere la posible presencia de coinfecciones bacteriana asociada a animales inmunosuprimidos. La identificación de *Stenotrophomonas* resalta la necesidad de integrar los hallazgos microbiológicos en un análisis conjunto, ya que podría tratarse de un agente oportunista con implicaciones clínicas subestimadas en felinos con *FeLV*. Este hallazgo abre la posibilidad de futuras investigaciones orientadas a caracterizar su papel patogénico en la población felina local.

El análisis molecular realizado en este estudio permitió la identificación de *Mycoplasmas* mediante un enfoque combinado de comparación de secuencias y reconstrucción filogenética. En una primera etapa, las secuencias consenso obtenidas fueron comparadas con la base de datos GenBank mediante BLASTn, lo que reveló altos porcentajes de identidad y cobertura con secuencias previamente reportadas de *Mycoplasma haemofelis* y *Candidatus Mycoplasma haematominutum*. Estos resultados proporcionaron una identificación preliminar de las secuencias obtenidas.

Posteriormente, la reconstrucción filogenética basada en el gen ARNr 16S permitió reforzar esta asignación taxonómica, ya que las secuencias obtenidas en el presente estudio se agruparon dentro de los clados correspondientes a dichas especies con altos valores de soporte bootstrap. El árbol filogenético obtenido en este estudio mostró tres clados monofiléticos bien definidos correspondientes a *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haematominutum* y *Candidatus Mycoplasma turicensis*. Las secuencias generadas en el presente estudio se agruparon dentro de los clados correspondientes junto con secuencias de referencia obtenidas de GenBank, lo que confirma la identidad taxonómica de los aislamientos analizados y evidencia su estrecha relación evolutiva con cepas previamente reportadas.

Los análisis de distancia genética respaldan esta interpretación. Las distancias dentro de grupo (within-group) fueron bajas para las especies de hemoplasmas analizadas, particularmente para *M. haemofelis* y *Candidatus M. haematominutum*, lo que indica una alta similitud genética entre las secuencias pertenecientes a cada clado. Por el contrario, las distancias entre grupos (between-group) fueron considerablemente mayores cuando se compararon hemoplasmas felinos con otros linajes de *Mycoplasma* asociados a distintos hospedadores, como bovinos, ovinos y porcinos, evidenciando la divergencia evolutiva entre estos taxones bacterianos. En el presente análisis, las secuencias asociadas a felinos se agruparon separadamente de aquellas asociadas a ungulados domésticos, lo que sugiere que, aunque pertenecen al mismo género bacteriano, estos organismos han seguido trayectorias evolutivas diferenciadas vinculadas a sus respectivos hospedadores.

Asimismo, el uso de *Tsukamurella* spp. como grupo externo permitió establecer adecuadamente la polarización del árbol filogenético, ubicándose basalmente respecto al resto de los taxones analizados. Esta separación clara entre el outgroup y el ingroup respalda la estabilidad de la topología obtenida y confirma la validez del análisis evolutivo realizado.

En conjunto, los resultados filogenéticos obtenidos en este estudio no solo confirman la presencia de *Mycoplasma haemofelis* y *Candidatus Mycoplasma haematominutum* en la población felina analizada, sino que también evidencian la coherencia de las secuencias locales con los patrones evolutivos descritos para hemoplasmas felinos a nivel global. De esta manera, el análisis filogenético complementa y fortalece la identificación molecular basada en similitud de secuencia, proporcionando un marco evolutivo que permite interpretar la diversidad genética observada en estos agentes infecciosos.

Los hallazgos en cuanto al estilo de vida desempeñan un papel importante dado que se encontró un alto porcentaje de felinos domésticos positivos que tenían acceso al exterior o un acceso controlado, lo que podría favorecer la transmisión de la micoplasmosis, apoyando las observaciones de Melo et al. (2023) sobre la mayor incidencia en animales que conviven en grupos o tienen contacto frecuente con otros individuos. Los signos clínicos más predominantes fueron la anemia y las alteraciones hematológicas, donde se observó anemia en el 90% de los casos, lo que concuerda con los hallazgos de Valle-Mieles et al. (2024) y Villanueva-Saz et al. (2023), quienes reportaron la anemia como manifestación clínica frecuente de infecciones por *Mycoplasma* spp.

Por otro lado, no se encontró una asociación clara entre la convivencia con otros animales no mostró con la infección, similar a lo descrito por Latrofa et al. (2020) y Berzina et al. (2021), quienes no encontraron diferencias significativas entre machos y hembras ni entre animales jóvenes y adultos en la prevalencia de micoplasmosis. En conjunto, estos resultados sugieren que la micoplasmosis afecta tanto a felinos domésticos jóvenes como adultos, con mayor frecuencia en animales que tienen contacto con el exterior, y se manifiesta principalmente mediante alteraciones hematológicas. Por ende, se refuerza la necesidad de un monitoreo constante de la población felina y estrategias de prevención, especialmente en felinos domésticos con estilos de vida que favorecen el contacto con otros individuos.

Desde una perspectiva One Health, la detección de *Mycoplasmas* y bacterias oportunistas en felinos domésticos con acceso al exterior subraya la interconexión entre salud animal, ambiente y potencial riesgo zoonótico. La convivencia estrecha entre gatos y propietarios, especialmente en entornos urbanos densamente poblados como el Distrito Metropolitano de Quito, refuerza la importancia de la vigilancia molecular y del control de vectores como pulgas, considerados posibles mecanismos de transmisión.

El presente estudio presenta algunas limitaciones que deben considerarse al interpretar los resultados. En primer lugar, el tamaño muestral fue reducido y estuvo restringido a felinos positivos a *FeLV*, lo que limita la extrapolación de los hallazgos a la población felina general. En segundo lugar, el uso del gen ARNr 16S como único marcador molecular puede no ofrecer resolución suficiente para discriminar especies bacterianas estrechamente relacionadas (de Souza et al., 2025).

5. Conclusiones

El presente estudio permitió confirmar la presencia de *Mycoplasma* spp. en felinos domésticos infectados con *Leucemia Viral Felina (FeLV)* del Distrito Metropolitano de Quito mediante técnicas de epidemiología molecular, cumpliendo el objetivo de detectar molecularmente este agente en la población felina evaluada. Mediante el análisis molecular del gen 16S rRNA se identificó la presencia de *Candidatus Mycoplasma haematominutum* y *Mycoplasma haemofelis*, siendo esta última la especie más frecuente en los felinos domésticos infectados con *FeLV* incluidos en el estudio.

Estos resultados evidencian que factores como el acceso no supervisado al exterior desempeñan un papel relevante en la dinámica de transmisión de *Mycoplasma* spp. Asimismo, se destaca la alta frecuencia de anemia como alteración hematológica, la cual podría ser detectada y tratada oportunamente mediante la realización de un hemograma, contribuyendo a evitar que los felinos coinfectados con FeLV y micoplasmosis presenten un agravamiento de su estado de inmunosupresión y una evolución clínica más desfavorable de la enfermedad.

Es fundamental resaltar la necesidad de implementar estrategias de vigilancia y prevención en la población felina doméstica del Distrito Metropolitano de Quito, incluyendo la detección de *Mycoplasma* spp. en la práctica clínica rutinaria, especialmente en felinos positivos a FeLV y, con mayor énfasis, en animales donadores de sangre. Asimismo, se recomienda el control periódico de ectoparásitos con el fin de prevenir la transmisión a través de vectores, así como la reducción, en la medida de lo posible, del acceso no supervisado al exterior, disminuyendo de esta manera la exposición de los felinos a potenciales fuentes de contagio.

Adicionalmente, futuros estudios deberían ampliar el tamaño de muestra y considerar poblaciones felinas de diferentes regiones del país con el objetivo de comprender mejor la epidemiología de los *Mycoplasmas* felinos en Ecuador. Asimismo, sería relevante evaluar la dinámica de coinfección con FeLV, así como analizar la diversidad genética de los *Mycoplasmas* circulantes mediante estudios moleculares y filogenéticos más amplios que permitan comprender su variabilidad y posibles implicaciones clínicas.

De manera complementaria, es imprescindible promover la sensibilización no solo del personal médico veterinario, sino también de los profesionales de la salud humana, con el fin de evitar la estigmatización del felino doméstico como reservorio o transmisor de enfermedades. En este contexto, resulta fundamental fomentar una visión integral de Una Sola Salud (One Health), reconociendo que los felinos domésticos requieren protección, atención sanitaria y manejo responsable, al igual que cualquier otro ser vivo.

Financiamiento/Fondos: Esta investigación fue financiada por la DII-P011617_2.

Agradecimientos: Agradezco profundamente a la Universidad Internacional SEK, Jose Ruben, Juan Carlos, Gabriela, Camila, Pamela y Martina por todo el apoyo brindado durante la realización de este proyecto. También expreso mi agradecimiento a las empresas Bitrodiagnóstico, GENEPE y Diagnovet por su colaboración y aporte de recursos para el desarrollo de esta investigación. De igual manera, agradezco a la Unidad de Bienestar Animal del Municipio del Distrito Metropolitano de Quito, al Colegio de Médicos Veterinarios de Pichincha y a cada uno de los médicos veterinarios de las clínicas participantes, quienes facilitaron la recolección de muestras y contribuyeron de manera significativa a la realización de este estudio. Finalmente, un agradecimiento muy especial a Pichar, Ruffus, Pocha, Negra, Dango, Canela, Rabito y Jared por ser mi motivación de cada día.

Conflictos de Interés: Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias citadas

1. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
2. Ameldev, P., & Tresamol, P. V. (2018). Hemotropic mycoplasmosis – Emerging cause of infectious anaemia in dogs and cats. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(1), 1308-1311. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.159>
3. Barker, E. N. (2019). Update on feline hemoplasmosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 49(4), 733-743. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.02.009>
4. Bergmann, M., Englert, T., Stuetzer, B., & al., E. (2016). Risk factors of different hemoplasma species infections in cats. *BMC Veterinary Research*, 13, 52. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0953-3>
5. Berzina, I., Capligina, V., Namina, A., Visocka, A., & Ranka, R. (2021). Haemotropic *Mycoplasma* species in pet cats in Latvia: A study, phylogenetic analysis and clinical case report. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 7(2). <https://doi.org/10.1177/2055116921990033>
6. Carvalho, S. F., Pádua, G. T., Paula, W. V. d. F., Tavares, M. A., Neves, L. C., Pereira, B. G., Santos, R. A., dos Santos, G. C., Cardoso, E. R. N., Qualhato, A. F., Bittencourt, R. B. M., de Lima, N. J., Martins, D. B., Dantas-Torres, F., & Krawczak, F. d. S. (2024). Feline Vector-Borne Diseases and Their Possible Association with Hematological Abnormalities in Cats from Midwestern Brazil. *Microorganisms*, 12(11), 2171. <https://doi.org/10.3390/>

7. Castro Carangui, F. O. (2022). Prevalencia de leucemia viral felina en gatos (*Felis catus*) aparentemente sanos mediante ensayo inmunocromatográfico [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio de la UPS. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/23942>
8. Çetin, H. S., Ekici, O., Küçükyıldız, F., & Senlik, B. (2021). Response to doxycycline and oxytetracycline treatments in cats infected with *Mycoplasma* spp. and analysis of haemato-clinical findings and risk factors. *Tropical biomedicine*, 38(2), 149–158. <https://doi.org/10.47665/tb.38.2.050>
9. Ceylan, C., Culha, M. H., Sonmez, G., Selcuk, M. A., Ider, M., Evci, A., Yılmaz, S., Sevinc, F., & Ceylan, O. (2024). Feline Hemotropic *Mycoplasma* Species of Apparently Healthy Domestic Cats in Konya Province of Türkiye. *Veterinary Sciences*, 11(11), 530. <https://doi.org/10.3390/vetsci11110530>
10. Ceylan, O., Ma, Z., Ceylan, C., Ider, M., Evci, A., Mavinehir, A., Xuan, X., & Sevinc, F. (2024). Feline vector-borne haemopathogens in Türkiye: The first molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and ongoing *Babesia ovis* DNA presence in unspecific hosts. *BMC Veterinary Research*, 20, 365. <https://doi.org/10.1186/s12917-024-03429-1>
11. Chiriboga, C. E. (2023). Presencia de *Mycoplasma* spp. en gatos domésticos atendidos en el consultorio veterinario Villa Mascota [Tesis de grado, Universidad Agraria del Ecuador]. Repositorio Institucional de la Universidad Agraria del Ecuador.
12. Chomel, B. B. (2014). Emerging and re-emerging zoonoses of dogs and cats. *Animals (Basel)*, 4(3), 434–445. <https://doi.org/10.3390/ani4030434>
13. da Rosa Maciel, A., Biezus, G., de Cristo, T. G., Miletto, L. C., da Costa Maciel, U., Medeiros, A. L. V., Xavier, M. G. N., & Casagrande, R. A. (2023). *Mycoplasma haemofelis* infection and its correlation with feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) in cats in Southern Brazil. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 93, 101941. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2022.101941>
14. Damborg, P., Broens, E. M., Chomel, B. B., Guenther, S., Pasmans, F., Wagenaar, J. A., Weese, J. S., Wieler, L. H., Windahl, U., Vanrompay, D., & Guardabassi, L. (2016). Bacterial zoonoses transmitted by household pets: State-of-the-art and future perspectives for targeted research and policy actions. *Journal of Comparative Pathology*, 155(1, Supplement 1), S27–S40. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.03.004>
15. de Souza, P. A., Ramos, J. N., Vasconcellos, L., Costa, L. V., Forsythe, S. J., & Brandão, M. L. L. (2025). Application and limitations of 16S rRNA gene sequencing for identifying WHO priority pathogenic Gram-negative bacilli. *Infection and Drug Resistance*, 18, 6353–6375. <https://doi.org/10.2147/IDR.S550704>
16. Demkin, V. V., & Kazakov, A. A. (2021). Prevalence of hemotropic mycoplasmas and coinfection with feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in cats in the Moscow region, Russia. *Preventive Veterinary Medicine*, 190, 105339. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105339>
17. Diaz, E., Hidalgo, A., Villamarín, C., Donoso, G., & Barragan, V. (2021). Vector-borne zoonotic blood parasites in wildlife from Ecuador: A report and systematic review. *Veterinary world*, 14(7), 1935–1945. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1935-1945>
18. Duarte, A., Marques, V., Correia, J. H. D., Neto, I., São Bráz, B., Rodrigues, C., Martins, T., Rosado, R., Ferreira, J. P., Santos-Reis, M., & Tavares, L. (2015). Molecular detection of haemotropic *Mycoplasma* species in urban and rural cats from Portugal. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(6), 516–522. <https://doi.org/10.1177/1098612X14550172>
19. European Advisory Board for Cat Diseases. (2024). Haemoplasma in cats [Fact sheet]. Retrieved from https://www.abcdcatsvets.org/wp-content/uploads/2024/05/FS_Haemoplasma_EN_April-2024.pdf
20. Faulhaber, M. M., Tardy, F., Saul, F., Müller, E., Pees, M., & Marschang, R. E. (2025). Detection of *Mycoplasma* spp. from snakes from five different families. *BMC veterinary research*, 21(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12917-025-04487-4>
21. Ferraz, A., Barwaldt, E. T., Ongaratto, R. F., Bierhals, E. S., Lima, C. M. de, Dallmann, P. R. J., Moreira, T. F. B., Santos, R. L. dos, Cunha, R. C., Schuch, L. F. D., Nobre, M. de O., & Nizoli, L. Q. (2024). Molecular Diagnosis of *Mycoplasma haemofelis* and ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum*’ in Domestic Feline: A Case Report. *Advances in Research*, 25(4), 372–378. <https://doi.org/10.9734/air/2024/v25i41115>
22. Grace, D., & Cook, E. (2023). Zoonoses and poverty: The multiple burdens of zoonoses in low- and middle-income countries. In A. Sing (Ed.), *Zoonoses: Infections affecting humans and animals* (pp. 1–13). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85877-3_46-2
23. Hartmann, K., & Hofmann-Lehmann, R. (2020). What's New in Feline Leukemia Virus Infection. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 50(5), 1013–1036. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2020.05.006>
24. Hawley, J., Yaaran, T., Maurice, S., & Lappin, M. R. (2018). Amplification of *Mycoplasma haemofelis* DNA by a PCR for point-of-care use. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 30(1), 140–143. <https://doi.org/10.1177/1040638717744310>
25. Imre, M., Văduva, C., Dărăbuș, G., Morariu, S., Herman, V., Plutzer, J., Suici, T., Lait, P. J. P., & Imre, K. (2020). Molecular detection of hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in domestic cats (*Felis catus*) in Romania. *BMC veterinary research*, 16(1), 399. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02626-7>
26. Jenkins, K. S., Dittmer, K. E., Marshall, J. C., & Tasker, S. (2013). Prevalence and risk factor analysis of feline haemoplasma infection in New Zealand domestic cats using a real-time PCR assay. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(12), 1063–1069. <https://doi.org/10.1177/1098612X13494352>
27. Kaewmongkol, S., Lakhana, N., Sirinarumit, T., Fenwick, S. G., & Kaewmongkol, G. (2020). Investigation of hemotropic *Mycoplasma* spp. genotypes in client-owned cats in Thailand. *Veterinary microbiology*, 247, 108765. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108765>
28. Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for Adaptive and Green Computing. *Molecular biology and evolution*, 41(12), msae263. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
29. Levy, J. K., Crawford, P. C., Lappin, M. R., Dubovi, E. J., Levy, M. G., Alleman, R., Tucker, S. J., & Clifford, E. L. (2008). Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galapagos. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(1), 60–65. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.0034.x>
30. Little, S., Levy, J., Hartmann, K., Hofmann-Lehmann, R., Hosie, M., Olah, G., & Denis, K. S. (2020). 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. *Journal of feline medicine and surgery*, 22(1), 5–30. <https://doi.org/10.1177/1098612X19895940>

31. Lobová, D., Konvalinová, J., Bedáňová, I., Filipejová, Z., & Molinková, D. (2021). Infections of cats with blood mycoplasmas in various contexts. *Acta Veterinaria Brno*, 90 (2), 211–219. <https://doi.org/10.2754/avb202190020211>
32. Melo, T. B., Silva, T. R. M., Almeida, T. L. A. C., Tutija, J. F., Silva, A. O. D., Lira, M. D. S., Amorim, D., Giannelli, A., Ramos, C. A. D. N., Alves, L. C., Carvalho, G. A., & Ramos, R. A. N. (2023). Molecular detection of vector-borne pathogens in cats tested for FIV and FeLV. *Veterinary parasitology, regional studies and reports*, 40, 100857. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2023.100857>
33. Moore, C. O., Lashnits, E., Lappin, M., et al. (2024). A case of mistaken identity: A systematic review, meta-analysis, and reinvestigation of hemotropic *Mycoplasma* spp. infection in *Ctenocephalides felis* (cat flea). *Parasites & Vectors*, 17, 209. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06292-8>
34. Novacco, M., Sugiarto, S., Willi, B., Baumann, J., Spiri, A. M., Oestmann, A., Riond, B., Boretti, F. S., Naegeli, H., & Hofmann-Lehmann, R. (2018). Consecutive antibiotic treatment with doxycycline and marbofloxacin clears bacteremia in *Mycoplasma haemofelis*-infected cats. *Veterinary microbiology*, 217, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.03.006>
35. Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2020). Zoonosis. Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 24 de noviembre de 2024, de <https://www.who.int/topics/zoonoses/en/>
36. Pizarro Mejia, K. J. (2025). *Determinación de la presencia de Mycoplasma haemofelis en gatos domésticos de la ciudadela "El Mamey" perteneciente al cantón Babahoyo* [Trabajo de integración curricular para optar por el título de Médico Veterinario, Universidad Técnica de Babahoyo]
37. Puga-Torres, B., Navarrete, H., & de la Torre, D. (2025). Retrospective Analysis of Feline Leukemia Virus (FeLV) Frequency in Domestic Cats in Quito, Ecuador (2021–2024). *Animals*, 15(10), 1469. <https://doi.org/10.3390/ani15101469>
38. Rahman, M. T., Sobur, M. A., Islam, M. S., Ievy, S., Hossain, M. J., El Zowalaty, M. E., Rahman, A. T., & Ashour, H. M. (2020). Zoonotic Diseases: Etiology, Impact, and Control. *Microorganisms*, 8(9), 1405. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091405>
39. Rajeev, R., Kannan, P., Sundaram, S., Mohan, S. B., Radjendirane, S., Harnathbhai, C. J., Subbaiyan, A., Naveenkumar, V., Mohanadasse, N. Q., Savariraj, W. R., Cull, C. A., & Amachawadi, R. G. (2025). *First Report of Stenotrophomonas maltophilia from Canine Dermatological Infections: Unravelling Its Antimicrobial Resistance, Biofilm Formation, and Virulence Traits*. *Antibiotics*, 14(7), 639. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14070639>
40. Reagan, K. L., Clarke, L. L., Hawley, J. R., Lin, P., & Lappin, M. R. (2017). Assessment of the ability of *Aedes* species mosquitoes to transmit feline *Mycoplasma haemofelis* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*'. *Journal of feline medicine and surgery*, 19(8), 798–802. <https://doi.org/10.1177/1098612X16658317>
41. Ravagnan, S., Carli, E., Piseddu, E., Da Rold, G., Porcellato, E., Zanardello, C., Carminato, A., Vascellari, M., & Capelli, G. (2017). Prevalence and molecular characterization of canine and feline hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in northern Italy. *Parasites & vectors*, 10(1), 132. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2069-9>
42. Razgūnaitė, M., Lipatova, I., Paulauskas, A., Snegiriovaitė, J., Karvelienė, B., Zamokas, G., Laukutė, M., & Radzijeuskaja, J. (2024). Prevalence and Diversity of Haemotropic *Mycoplasma* Species in Cats and Their Ectoparasites (Fleas and Ticks). *Veterinary Sciences*, 11(2), 81. <https://doi.org/10.3390/vetsci11020081>
43. RStudio Team. (2022). RStudio: Integrated development environment for R (Version 2022.12.0). RStudio, PBC. <https://posit.co/download/rstudio-desktop/>
44. Rungsuriyawiboon, O., Jarudecha, T., Hannongbua, S., Choowongkamon, K., Boonkaewwan, C., & Rattanasrisomporn, J. (2022). Risk factors and clinical and laboratory findings associated with feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infections in Bangkok, Thailand. *Veterinary world*, 15(7), 1601–1609. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.1601-1609>
45. Sacristán, I., Acuña, F., Aguilar, E., García, S., López, M. J., Cevidanes, A., Cabello, J., Hidalgo-Hermoso, E., Johnson, W. E., Poulin, E., Millán, J., & Napolitano, C. (2019). Assessing cross-species transmission of hemoplasmas at the wild-domestic felid interface in Chile using genetic and landscape variables analysis. *Scientific reports*, 9(1), 16816. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53184-4>
46. Skafte-Holm, A., Pedersen, T. R., Frølund, M., Stegger, M., Hallstrøm, S., Rasmussen, A., & Jensen, J. S. (2025). *Mycoplasma phocimorsus* in Woman with Tendinous Panaritium after Cat Scratch, Denmark. *Emerging infectious diseases*, 31(2), 380–382. <https://doi.org/10.3201/eid3102.241219>
47. Sykes J. E. (2010). Feline hemotropic mycoplasmas. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 40(6), 1157–1170. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.07.003>
48. Tapia Giler, D. (2018). Determinación de la presencia de *Mycoplasma haemofelis* en refugios felinos de la ciudad de Quito y sus valles. Quito: UCE. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15036>
49. Tan, S. M. L., Jajou, S., Stellato, A. C., & Niel, L. (2021). Perspectives of Canadian and American Cat Owners on Provision of Uncontrolled Outdoor Access for Owned Domestic Cats. *Frontiers in veterinary science*, 8, 742245. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.742245>
50. Tasker, S. (2010). Haemotropic mycoplasmas: What's their real significance in cats? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12 (5), 369–381. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2010.03.011>
51. Tasker S. (2022). Hemotropic *Mycoplasma*. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 52(6), 1319–1340. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2022.06.010>
52. Torres Angulo, C. (2023). *Mycoplasma* sp hemotrópico: El examen citológico como método diagnóstico en la anemia infecciosa felina. Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ciencias de la Salud, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Ibagué. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12494/53816>
53. Valle-Mieles, E., Villamarin-Barragán, D., Mieles-Soriano, G., & Valle-Garay, M. (2024). Complicaciones hematológicas causadas por la presencia de *Mycoplasma* spp. en gatos con leucemia viral felina. Hematological complications caused by the presence of *Mycoplasma* spp. in cats with feline viral leukemia. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 32, 1-5. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e32165>
54. Xiu, F., Li, X., Liu, L., Xi, Y., Yi, X., Li, Y., & You, X. (2024). *Mycoplasma* invasion into host cells: An integrated model of infection strategy. *Molecular Microbiology*, 121(4), 814–830.

55. Yamakawa, A. C., Haisi, A., Kmetiuk, L. B., et al. (2023). Molecular detection of feline hemoplasmas and retroviruses in free-roaming and shelter cats within a university campus. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1177/20551169221148672>
56. Yáñez-Ortiz, I, Cadena, B, Chávez, G, Altamirano, D., & Donoso, L. (2024). Prevalencia de leucemia viral felina (FeLV) e inmunodeficiencia felina (FIV) en gatos domésticos del cantón Quito entre 2012 y 2024 [Manuscrito enviado para publicación]. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Internacional del Ecuador UIDE.