

**Islas de patogenicidad de
*Corynebacterium pseudotuberculosis***

Mabel Gethsemani Jaimes González
Roberto Montes de Oca Jiménez
Siomar de Castro Soares
Martha Elba Ruiz Riva Palacio
Pedro Sánchez Aparicio
María Carla Rodríguez Domínguez





Introducción

Corynebacterium pseudotuberculosis biovar *ovis* es una bacteria gram positiva perteneciente al género *Corynebacterium sp*, constituye el agente etiológico de la Linfadenitis caseosa (LAC) en ovejas y cabras; enfermedad caracterizada por la formación de abscesos en nódulos linfáticos y órganos internos, ocasionando importantes pérdidas económicas en la producción de los pequeños rumiantes. Por su capacidad de reducir nitratos *C. pseudotuberculosis* se clasifica en dos biovars, reducción de nitrato positiva corresponde al biovar *equi*, reducción de nitrato negativa al biovar *ovis*. El potencial patógeno de este microorganismo se ve reflejado en un amplio número de mamíferos a los que puede infectar; los equinos son diagnosticados con linfangitis ulcerosa, abscesos y algunos órganos internos pueden verse comprometidos por *C. pseudotuberculosis* biovar *equi*. En bovinos se han reportado lesiones granulomatosas ulcerosas en diversas formas clínicas: cutánea, mastítica y visceral; los bovinos pueden verse afectados por los biovars *ovis* y *equi*. La enfermedad edematosa de la piel (OSD) es la infección que se manifiesta en búfalos, caracterizada por una extensa tumefacción cutánea edematosa en la papada, patas traseras o delanteras y vientre asociada a *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis*. En los rebaños de los pequeños rumiantes se puede identificar a la LAC en dos formas de presentación cutánea y/o visceral, ambas caracterizadas por la formación de abscesos en los nódulos linfáticos palpables y en órganos internos como pulmones, hígado y riñones; el padecimiento provoca el deterioro de la condición corporal de los animales disminuyendo su productividad.

La LAC no ha sido controlada eficazmente porque su diagnóstico es basado en la identificación de abscesos en los nódulos linfáticos, que generalmente aparecen en una etapa tardía. Por otro lado, el fracaso de la terapia antibiótica es otro factor que ha contribuido a la prevalencia de la enfermedad en el mundo. A pesar de la disponibilidad de vacunas, ninguna de ellas brinda protección total y no alcanzan la misma eficiencia cuando se comparan en ovinos y caprinos. También tienen niveles de seguridad cuestionables e incluso algunos efectos secundarios.

El estilo de vida y potencial zoonótico de *C. pseudotuberculosis* se ve favorecido por la presencia de ácidos corynomicólicos y la producción de la exotoxina PLD (fosfolipasa D) considerada su principal factor de virulencia; esta esfingomielinasa es codificada por el gen *pld*, estos como otros factores de virulencia son determinantes para la supervivencia y virulencia de la bacteria. Actualmente una de las herramientas más eficientes en el estudio de agentes patógenos es la identificación de genes relacionados con la patogenidad y plasticidad de las bacterias, esta última les ha permitido adaptarse a los cambios del ambiente además el conocimiento exhaustivo del genoma permitirá identificar las estructuras que le brindan la capacidad de virulencia, dianas de vacunas, y candidatos antimicrobianos.



Los genes que codifican a factores de virulencia se encuentran alojados dentro del genoma en regiones denominadas islas de patogenicidad. Hasta el momento se han reportado dieciséis islas de patogenicidad en *C. pseudotuberculosis*, los resultados de estos trabajos han contribuido a la identificación de moléculas potenciales para vacunas como PLD y CP40 (serina proteasa). Es por ello que en el siguiente capítulo se abordan los principales hallazgos *in silico* dirigidos al estudio de las islas de patogenicidad de *C. pseudotuberculosis* y los genes albergados en estas regiones.

***Corynebacterium pseudotuberculosis* características morfológicas y genéticas**

El género *Corynebacterium* *sp* comprende más de 50 especies de importancia médica humana y veterinaria; además de las especies no patógenas. Las especies del género *Corynebacterium* de mayor relevancia clínica son *Corynebacterium diphtheriae*, *C. jeikeium* y *C. pseudotuberculosis*, que son los agentes causales de la difteria, infecciones nosocomiales en humanos y linfadenitis caseosa (CLA) en cabras y ovejas, respectivamente. *C. glutamicum* es utilizada en la producción de aminoácidos como L-aspartato y L-lisina, mientras que *C. ulcerans* puede provocar infecciones en humanos como en animales. Los miembros de este género comparten características específicas: una pared celular gruesa con presencia de ácidos micólicos, peptidoglicano y arabinogalactano, ácidos grasos saturados e insaturados y un contenido de C+G (47-74%). Las especies patógenas de este género se dividen en dos grupos, diftéricas, al que pertenecen aquellas especies productoras de la toxina difteria como *C. diphtheriae*, *C. pseudotuberculosis* (únicamente biovar *equi*) y *C. ulcerans*. Mientras que las especies no diftéricas causantes de infecciones son consideradas bacterias oportunistas, forman parte de la microbiota de la piel y nasofaringe humana entre ellas se encuentra a *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. resistens*. Entre las especies no patógenas se consideran a *C. glutamicum*, *C. efficiens*, *C. crenatum* y *C. variabile*, que han sido utilizadas en la industria del queso, cerveza, pan, vinos y producción de aminoácidos.

La clasificación de *C. pseudotuberculosis* se basó originalmente en características morfológicas y bioquímicas, por su capacidad de reducir nitratos *C. pseudotuberculosis* se clasifica en dos biovars, reducción de nitrato positiva identifica al biovar *equi* y reducción de nitrato negativa al biovar *ovis*. *C. pseudotuberculosis* es un cocobacilo, gram-positivo, no esporulado, anaerobio facultativo, mide 0,5 μm a 0,6 μm de amplitud y 1,0 μm a 3,0 μm de longitud. Tiene la capacidad de degradar galactosa, maltosa, L- y D-arabinosa y glucosa sin producción de gases. En cultivo agar sangre y en condiciones de anaerobiosis a 37°C se observa crecimiento escaso a las 24 horas, con formación de colonias pequeñas de color blanco. Posteriormente a las 48-72h de incubación el crecimiento es abundante con formación de colonias más grandes, que toman una coloración blanca grisácea y con visualización de β -hemólisis.



Respecto a sus características genómicas, se ha reportado un tamaño de 2,335,112 (bp) para la cepa Cp1002 (aislado de cabra originario de Brasil) y 2,328,208 (bp) correspondiente a la cepa CpC231 (aislado de oveja originario de Australia), un total de 2111 y 2103 genes respectivamente y un contenido de G+C del 52.19% para ambos genomas. Estos datos muestran similitud con los reportados en 2018 al ser secuenciados seis aislados de *C. pseudotuberculosis* de origen mexicano: MEX1 (2,337,090 bp), MEX9 (2,337,578 bp), MEX25 (2,337,529 bp), MEX29 (2,337,866 bp), MEX30 (2,368,140 bp) y MEX31 (2,367,880). Se ha logrado la estandarización de la técnica de PCR *Quadruplex*, que amplifica fragmentos de cuatro genes específicos 16S rRNA (816pb), *pld* (203pb), *rpoB* (446pb) y *narG* (612 pb), que permite diferenciar entre cepas del biovar *ovis* y *equi*.

El genoma bacteriano está compuesto por un genoma central que contiene la información para las funciones celulares esenciales. *C. pseudotuberculosis* presenta un total de 1.504 genes en su genoma central, lo que representaba el 54% de todo el pan-genoma de la especie. Por otro lado, contiene un acervo genético flexible, que codifica rasgos adicionales que pueden ser beneficiosos en determinadas circunstancias. Estos incluyen genes que confieren resistencia a antibióticos y compuestos tóxicos, y otros factores de virulencia.

Una de las características de estas regiones cromosómicas es que incluyen elementos genéticos móviles y accesorios, como bacteriófagos, plásmidos, islas de patogenicidad, elementos de secuencia de inserción (IS), transposones e integrones. Uno de los elementos que promueve la plasticidad de las bacterias es la movilización de genes a través de la transferencia horizontal de genes. El desarrollo e implementación de la secuenciación de genomas, han revelado información clave en el estudio de los agentes patógenos.

Transferencia horizontal de genes

La transferencia horizontal de genes (HGT) permite el intercambio de material genético entre organismos, sin necesidad de división celular. Antes de la era de la genómica, se sabía que las bacterias adquirían ADN extraño a través de plásmidos y fagos, actualmente se entiende que la HGT es un importante impulsor de la evolución genómica en procariotas, es responsable de la adquisición de muchos rasgos adaptativos, incluida la resistencia a los antibióticos. La primera descripción de transferencia horizontal de genes se remonta al año 1928 cuando se descubrió que las bacterias neumocócicas no virulentas pueden volverse patógenas por entrar en contacto con bacterias virulentas, actualmente se sabe que los neumococos tienen una notable capacidad para adquirir ADN horizontalmente.

Las condiciones básicas para lograr un evento de HGT son la disponibilidad del ADN del donante en el medio y los mecanismos que aseguran que el hospedero lo integre



en su genoma. Se han descrito tres mecanismos que permiten el acceso del ADN extraño al genoma de las bacterias localizado en el citoplasma (Figura 1).

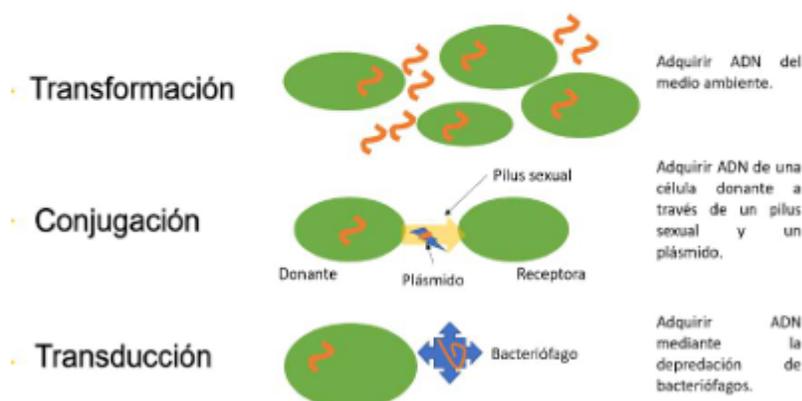


Figura 1. Mecanismos de transferencia horizontal de genes.

Dentro del citoplasma, el ADN puede tener distintos destinos. Puede ser destruido por los sistemas de degradación del ADN presentes en el citoplasma como: enzimas de restricción y ADNasas. También puede persistir como entidades replicativas autónomas, como los plásmidos. Finalmente, todo o parte del ADN puede integrarse en el cromosoma del hospedero, una vez adquirido, tiene el potencial de otorgar nuevas capacidades a la unidad receptora.

Islas de Patogenicidad

Uno de los mecanismos mediados por HGT es la inserción de secuencias e islas genómicas. Las secuencias de inserción son fragmentos genéticos móviles relativamente pequeños, que tienen la capacidad de transponerse dentro y entre genomas. Mientras que las islas genómicas son grandes fragmentos de ADN (p.ej. 10 -200 kb), que dependiendo de los genes que alberguen se pueden clasificar como islas de patogenicidad (PAI), islas metabólicas, islas de secreción, islas de resistencia e islas de simbiosis. El término PAI fue utilizado por primera vez en 1990 para nombrar dos grandes regiones inestables en el cromosoma de *Escherichia coli* uropatógena. Actualmente, este término se ocupa para describir regiones en los genomas de ciertos patógenos que están ausentes en las cepas no patógenas de la misma especie o estrechamente relacionadas y que contienen grandes bloques continuos de genes que codifican a factores de



virulencia. Los PAI han sido caracterizados recientemente en una amplia gama de patógenos bacterianos gracias a la secuenciación genómica y han contribuido a la identificación de muchos factores de virulencia utilizados por estas especies. La identificación *in silico* de islas de patogenicidad se gestiona mediante la búsqueda de elementos vinculados a la transferencia horizontal de genes como diferencia en el uso de codones, contenidos inusuales de G+C, frecuencia de dinucleótidos, secuencias de inserción, y suelen estar flanqueados por un lado por un gen de ARN. Otra característica de los PAI es que comúnmente poseen genes que codifican factores que están involucrados en la movilidad genética, como: integrasas, transposasas, genes de fagos y orígenes de replicación.

Islas de Patogenicidad de *Corynebacterium pseudotuberculosis*

En el año 2011 se confirma el hallazgo de la identificación de siete regiones con todas las características de genes adquiridos horizontalmente en cepas de *C. pseudotuberculosis*, mismas que estuvieron ausentes en cepas no patógenas (*C. glutamicum*), en ese momento se les denominó islas de patogenicidad putativas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* (PiCp). Estos trabajos abrieron la puerta a nuevas investigaciones sobre el análisis de los genes de virulencia alojados en estas regiones. El estudio de los factores de virulencia permite entender cuáles son las estructuras y moléculas que le confieren la capacidad a la bacteria para ser más patógena. En la actualidad se tienen identificadas 16 PAI.

Las PAI contienen varios genes implicados en la adhesión, invasión, colonización, propagación dentro del hospedero, supervivencia en el interior de las células infectadas y la evasión del sistema inmune. Las secuencias de las PiCp presentan un alto nivel de similitud (82–100%) intra-biovar en las cepas *ovis*, así como un menor nivel de similitud (78–91%), con respecto al biovar *equi*, con un patrón de delección conservado en las mismas islas de patogenicidad, independientemente de la cepa. Sin embargo, las cepas de biovar *equi* contienen grandes delecciones y un menor nivel de similitud intra-biovar (77–88%) y también en comparación con las PiCp de biovar *ovis* (62-74%).

La isla de patogenicidad 1 (PiCp1) alberga un grupo de genes esenciales involucrados en la patogenicidad de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Fue identificada la secuencia de un gen de la familia de transposasas IS256. Las secuencias de inserción (IS) son pequeñas secuencias de ADN móviles. La presencia de esta transposasa probablemente sea responsable de la inserción de esta isla de patogenicidad en el genoma de *C. pseudotuberculosis*.

El gen *pld* es considerado el principal factor de virulencia de *C. pseudotuberculosis*. Codifica una potente exotoxina que promueve la hidrólisis de los enlaces éster de la esfingomielina en las membranas celulares de los mamíferos,



contribuyendo a la propagación de la bacteria dentro del hospedero.

Luego de la secuencia de *pld* se encuentra el operón Fag responsable de la adquisición de hierro extracelular permitiendo a la bacteria sobrevivir en ambientes hostiles. Los metales, como el hierro (Fe), el manganeso (Mn), el zinc (Zn) y el cobre (Cu), desempeñan un papel fundamental como cofactores enzimáticos o componentes estructurales de las proteínas en la mayoría de los seres vivos. Gracias a la plasticidad genómica las bacterias han desarrollado transportadores de metales de alta afinidad.

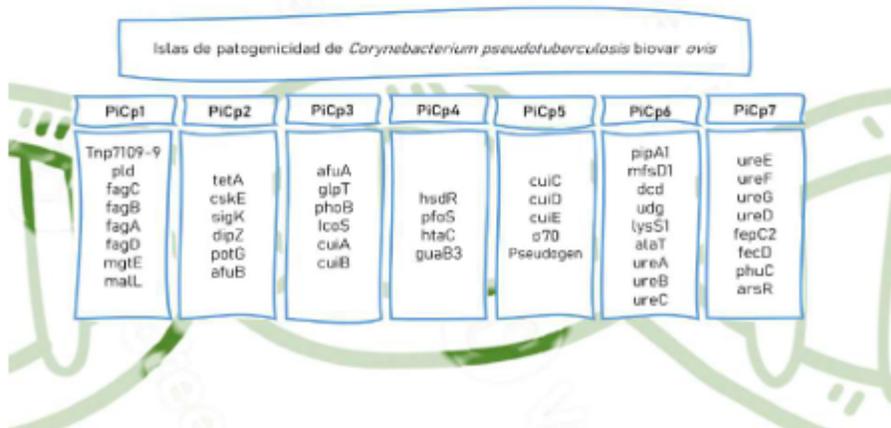


Figura 2. Islas de patogenicidad reportadas en *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis*. Información tomada de Soares y colaboradores 2013.

PiCp2 alberga a un gen de resistencia, el gen *tetA* codifica una proteína transportadora de flujo de tetraciclina y protege ante la acción de este antibiótico. El gen *mgtE*, participa en la entrada de Mg^{2+} , elemento importante en la adaptación térmica, protegiendo a las bacterias del choque térmico, causado por la fiebre en mamíferos de sangre caliente. PiCp2 también alberga el gen *dipZ*, que se puede localizar completo dentro del filo actinobacteria exclusivamente en bacterias patógenas, se le atribuye participación en la infección de macrófagos, pero su función aún no ha sido aclarada.

PiCp3 aloja el gen *potG*, del operón *potFGHI*, que codifica para una proteína de unión de ATP asociada a la membrana, proporciona energía para la captación de putrescina desde el espacio periplásmico.

El gen *glpT* pertenece a la familia organofosfato: fosfato antiportadora de la superfamilia facilitadora principal (MFS) que participa como medio el transporte de glicerol 3-fosfato (G3P) a través de la membrana en bacterias. Diversos organismos



pueden utilizar el glicerol-3-fosfato y los glicerofosfodiésteres como únicas fuentes de carbono (energía) y como precursores para la biosíntesis de fosfolípidos.

Dentro de la PiCp4 se ubica el operón *ciuABCDE*, que participa en la obtención de hierro mediante el uso de sideróforos para extraer el hierro de proteínas transportadoras, como transferrina, lactoferrina y hemoglobina-haptoglobina. Los sideróforos son moléculas quelantes de hierro de alta afinidad secretadas para obtener el hierro férrico de las proteínas del hospedero, estos sistemas han sido desarrollados por bacterias para poder adaptarse a medios con bajas concentraciones de hierro libre.

La isla 5 (PiCp5) tiene un gen *pfoS*, los factores de virulencia regulados por *pfoR* que no han sido totalmente estudiados, no obstante, la desactivación de este gen inhibe la hemólisis a través de la regulación negativa de varios *Clostridium perfringens*. PiCp5 de *C. pseudotuberculosis* comparte regiones flanqueantes idénticas con PICD8 de *C. diphtheriae*, este patrón destaca esta región como punto putativo para inserción de transposones y muy probablemente GEI. La PiCp6 presenta el gen *pipA1*, que codifica una prolina aminopeptidasa, que cataliza la eliminación de residuos de prolina N-terminal de péptidos, además desempeña un papel importante en la generación de energía.

La isla 7 (PiCp7) contiene un operón de ureasa que también está presente en *C. glutamicum*. El operón es responsable de la adquisición de nitrógeno mediante la hidrólisis de urea. Las ureasas microbianas son metaloenzimas multisubunitarias que hidrolizan la urea para formar ácido carbónico y dos moléculas de amoníaco.

La genómica comparativa ha demostrado que el genoma de *Corynebacterium pseudotuberculosis* es uno de los más pequeños en comparación con otras especies del mismo género, esto se debe principalmente a la pérdida de genes. A través de alineamientos genéticos se confirmó similitud entre secuencias del gen *rpoB* de *C. pseudotuberculosis* y *C. diphtheriae*, por último, se ha concluido que estos genomas están altamente conservados y la posición del gen se conserva dentro de la especie. Esta observación afianza las conclusiones de investigaciones previas que afirman la sintenia observada en este género, lo que indica que pocos eventos de reordenamiento ocurrieron durante la evolución. *C. pseudotuberculosis* comparte más genes ortólogos con *C. glutamicum* (1345 genes), *C. efficiens* (1330), *C. diphtheriae* (1263 genes) y *C. auricummucosum* (1273 genes). En 2017 con genomas secuenciados de cepas de *C. pseudotuberculosis* obtenidas de búfalos se identificó una inserción en la PiCp12 que contenía un corinefago y un gen de la toxina de la difteria, los cuales pueden jugar un papel en la adaptación de *C. pseudotuberculosis* a este nuevo hospedero.

En 2013 se reportaron cinco nuevos PAI, identificados como PiCps 12–16, este hallazgo se gestionó a través del software PIPS. Aunque los 16 PAI están presentes en todas las cepas, tienen diferentes patrones de deleciones, especialmente en las cepas biovar *equi*. Un acontecimiento importante de este análisis fue la identificación del gen de



la toxina diftérica en una cepa de *C. pseudotuberculosis*, se puso en evidencia que este gen puede ser adquirido por transferencia horizontal y ser albergado por otras especies. Esta toxina también se ha identificado en cepas de *C. ulcerans*, donde causa una enfermedad similar a la difteria.

Conclusiones

Las infecciones causadas por *Corynebacterium pseudotuberculosis* ocurren constantemente, debido a varios factores: diagnóstico ineficiente, la baja o nula disponibilidad de vacunas, la movilización de animales y turismo desde y hacia países endémicos. El desafío al que nos enfrentamos en la actualidad es la generación de biológicos seguros y eficaces contra los agentes que impactan en la salud pública y veterinaria.

La evolución y virulencia de las bacterias pueden estar impulsadas por la recombinación genética, los genes que codifican a factores de virulencia se encuentran alojados dentro de islas genómicas, específicamente dentro de las islas de patogenicidad. Las islas de patogenicidad y los profagos son a menudo las fuentes de plasticidad del genoma entre especies patógenas de *Corynebacterium sp.*

La transferencia horizontal de genes es un mecanismo que ha intervenido en la adaptación de las bacterias mejorando su potencial patógeno. La identificación y análisis de estas agrupaciones de genes son una herramienta en el estudio de agentes patógenos que contribuyen al esfuerzo para la erradicación y control de enfermedades.

Referencias

- Blum, G., Ott, M., Lischewski, A., Ritter, A., Imrich, H., Tschäpe, H. & Hacker, J. (1994). Excision of large DNA regions termed pathogenicity islands from tRNA-specific loci in the chromosome of an *Escherichia coli* wild-type pathogen. *Infection and immunity*, 62(2), 606–614. <https://doi.org/10.1128/iai.62.2.606-614.1994>
- Brooks, B.W. & Barnum, D.A. (1984). Characterization of strains of *Corynebacterium bovis*. *Canadian Journal of Comparative Medicine: Revue Canadienne de Medecine Compare* 48(2): 230–232. pmid:6722650.
- Brown, J.S., Gilliland, S.M., Ruiz, A.J. & Holden, D.W. (2002). Characterization of pit, a *Streptococcus pneumoniae* iron uptake ABC transporter. *Infection and immunity*, 70: 4389-4398.
- Cheleuitte, N.C., Gulvik, C.A., McQuiston, J.R., Humrighouse, B.W., Bell, M.E., Villarma, A., Fischetti, V.A., Westblade, L.F. & Lipman, N.S. (2018). Genotypic differences between strains of the opportunistic pathogen *Corynebacterium bovis* isolated from humans, cows, and rodents. *PLoS One*. Dec 26; 13(12):e0209231.



- Dangel, A., Berger, A., Konrad, R. & Sing, A. (2019). NGS-based phylogeny of diphtheria-related pathogenicity factors in different *Corynebacterium* spp. implies species-specific virulence transmission. *BMC Microbiology*, 19(1). DOI:10.1186/s12866-019-1402-1
- Gal-Mor, O. & Finlay, B.B. (2006). Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. *Cellular microbiology*, 8(11), 1707–1719. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2006.00794.x
- Guimarães, L., Soares, S., Trost, E., Blom, J., Ramos, R., Silva, A., Barh, D. & Azevedo, V. (2015). Genome informatics and vaccine targets in *Corynebacterium urealyticum* using two whole genomes, comparative genomics, and reverse vaccinology. *BMC genomics*, 16 Suppl 5(Suppl 5), S7. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S5-S7>
- Hacker, E., Antunes, C.A., Mattos G, A.L., Burkovski, A. & Tauch, A. (2016). *Corynebacterium ulcerans*, an emerging human pathogen. *Future microbiology*, 11, 1191–1208. <https://doi.org/10.2217/fmb-2016-0085>
- Hacker, J., Blum-Oehler, G., Muhldorfer, I. & Tschape, H. (1997). Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. *Molecular microbiology*, 23(6), 1089–1097. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.3101672.x>
- Hacker, J. & Kaper, J. B. (2000). Pathogenicity Islands and the Evolution of Microbes. *Annual review of microbiology*, 54, 641–679. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.641>
- Ibraim, I. C., Parise, M. T. D., Parise, D., Sfeir, M. Z. T., de Paula Castro, T. L., Wattam, A. R., Ghosh, P., Barh, D., Souza, E. M., Góes-Neto, A., Gomide, A. C. P. & Azevedo, V. (2019) Transcriptome profile of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in response to iron limitation. *BMC genomics*, 20(1), 663. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6018-1>
- Ibtehaz, N., Ahmed, I., Ahmed, M. S., Rahman, M. S., Azad, R. K., & Bayzid, M. S. (2021). SSG-LUGIA: Single Sequence based Genome Level. Unsupervised Genomic Island Prediction Algorithm. *Briefings in bioinformatics*, 22(6), bbab116. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab116>
- Khamis, A., Raoult, D. & La Scola, B. (2005). Comparison between *rpoB* and 16S rRNA gene sequencing for molecular identification of 168 clinical isolates of *Corynebacterium*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(4), 1934–1936. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.4.1934-1936.2005>
- Kalinowski, J., Bathe, B., Bartels, D., Bischoff, N., Bott, M., Burkovski, A., Dusch, N., Eggeling, L., Eikmanns, B. J., Gaigalat, L., Goesmann, A., Hartmann, M., Huthmacher, K., Krämer, R., Linke, B., McHardy, A. C., Meyer, F., Möckel, B.,



- Pfefferle, W., Pühler, A., Tauch, A. (2003). The complete *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins. *Journal of biotechnology*, 104(1-3), 5–25. [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(03\)00154-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(03)00154-8)
- Lawrence J. G. (2005). Horizontal and vertical gene transfer: the life history of pathogens. *Contributions to microbiology*, 12, 255–271. <https://doi.org/10.1159/000081699>
- Moore, L.S.P., Leslie, A., Meltzer, M., Sandison, A., Efstratiou, A. & Sriskandan, S., (2015). *Corynebacterium ulcerans* cutaneous diphtheria. *The Lancet. Infectious diseases* 15(9), 1100–1107. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00225-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00225-X)
- Naka, H., Liu, M., Actis, L.A. & Crosa, J.H. (2013). Plasmid- and chromosome-encoded siderophore anguibactin systems found in marine vibrios: biosynthesis, transport and evolution. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 26(4), 537–547. <https://doi.org/10.1007/s10534-013-9629-z>
- Ridley, C. P., Lee, H. Y. & Khosla, C. (2008). Evolution of polyketide synthases in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(12), 4595–4600. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710107105>
- Saunderson, S. C., Nouioui, I., Midwinter, A. C., Wilkinson, D. A., Young, M. J., McInnes, K. M., Watts, J. & Sangal, V. (2021). Phylogenomic Characterization of a Novel *Corynebacterium* Species Associated with Fatal Diphtheritic Stomatitis in Endangered Yellow-Eyed Penguins. *mSystems* 6(3), e0032021. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00320-21>
- Schlicher, J., Schmitt, S., Stevens, M. J. A., Stephan, R. & Ghielmetti, G. (2021). Molecular Characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* Isolated over a 15-Year Period in Switzerland. *Veterinary sciences*, 8(8), 151. <https://doi.org/10.3390/vetsci8080151>
- Shadnezhad, A., Naegeli, A., & Collin, M. (2016). CP40 from *Corynebacterium pseudotuberculosis* is an endo- β -N-acetylglucosaminidase. *BMC microbiology*, 16(1), 261. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0884-3>
- Sekizuka, T., Yamamoto, A., Komiya, T., Kenri, T., Takeuchi, F., Shibayama, K., Takahashi, M., Kuroda, M. & Iwaki, M. (2012). *Corynebacterium ulcerans* 0102 carries the gene encoding diphtheria toxin on a prophage different from the *C. diphtheriae* NCTC 13129 prophage. *BMC microbiology*, 12, 72. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-72>
- Soares, S. C., Silva, A., Trost, E., Blom, J., Ramos, R., Carneiro, A., Ali, A., Santos, A. R., Pinto, A. C., Diniz, C., Barbosa, E. G., Dorella, F. A., Aburjaile, F., Rocha, F. S., Nascimento, K. K., Guimarães, L. C., Almeida, S., Hassan, S. S., Bakhtiar, S. M.,



- Pereira, U. P., ... Azevedo, V. (2013). The pan-genome of the animal pathogen *Corynebacterium pseudotuberculosis* reveals differences in genome plasticity between the biovar ovis and equi strains. *PLoS one*, 8(1), e53818. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053818>
- Soares, S. C., Dorella, F. A., Pacheco, L. G., Hirata, R., Jr, Mattos-Guaraldi, A. L., Azevedo, V., & Miyoshi, A. (2011). Plasticity of *Corynebacterium diphtheriae* pathogenicity islands revealed by PCR. *Genetics and molecular research: GMR*, 10(2), 1290–1294. <https://doi.org/10.4238/vol10-2gmr1211>
- Soriano, F., & Tauch, A. (2008). Microbiological and clinical features of *Corynebacterium urealyticum*: urinary tract stones and genomics as the Rosetta Stone. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 14(7), 632–643. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02023.x>
- Viana, M. V. C., Figueiredo, H., Ramos, R., Guimarães, L. C., Pereira, F. L., Dorella, F. A., Selim, S. A. K., Salaheldean, M., Silva, A., Wattam, A. R. & Azevedo, V. (2017). Comparative genomic analysis between *Corynebacterium pseudotuberculosis* strains isolated from buffalo. *PLoS one* 12(4), e0176347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176347>
- Zhang, R. & Zhang, C. T. (2005). Genomic islands in the *Corynebacterium efficiens* genome. *Applied and environmental microbiology*, 71(6), 3126–3130. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3126-3130.2005>