

SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS: *Corynebacterium pseudotuberculosis biovar ovis*

SENSITIVITY TO ANTIMICROBIALS: *Corynebacterium pseudotuberculosis biovar ovis*

Antúnez-Núñez LD,^{1*} Montes de Oca-Jiménez R,¹ Velázquez-Ordoñez V,¹ Rodríguez-Domínguez MC¹

¹ Universidad Autónoma del Estado de México, México.

* Autor de correspondencia: antunez_n.l.d@hotmail.com

RESUMEN

Corynebacterium pseudotuberculosis (*C. pseudotuberculosis*) biovar ovis es un microorganismo patógeno intracelular facultativo responsable de la Linfadenitis caseosa (LC) en pequeños rumiantes que se caracteriza por la presencia de abscesos superficiales y viscerales. El objetivo de este artículo fue realizar una revisión bibliográfica sobre la sensibilidad y resistencia antimicrobiana en aislados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis. Se revisaron las principales características de la enfermedad, sus factores de resistencia, su sensibilidad y resistencia a diferentes antimicrobianos y las diferentes pruebas utilizadas para *C. pseudotuberculosis*, como el método de microdilución, método de dilución de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), el método de difusión en disco y el método de difusión en agar Mueller-Hinton, así como los inconvenientes en el tratamiento con antibióticos para esta bacteria. Esta revisión de literatura destaca la necesidad de realizar más pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos de *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis antes de ser considerado como un tratamiento de primera elección.

Palabras clave: *C. pseudotuberculosis*, biovar ovis, sensibilidad, antimicrobianos.

Abstract

Corynebacterium pseudotuberculosis (*C. pseudotuberculosis*) biovar ovis is a facultative intracellular pathogenic microorganism responsible for Caseous lymphadenitis (CL) in small ruminants that is characterized by the presence of surface and visceral abscesses. The objective of this article was to carry out a bibliographic review on antimicrobial sensitivity and resistance in isolates of *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis. The main characteristics of the disease, its resistance factors, its sensitivity and resistance to different antimicrobials and the different tests used for *C. pseudotuberculosis* were reviewed, such as the microdilution method, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dilution method, the disk diffusion and the Mueller-Hinton agar diffusion method, as well as the drawbacks of antibiotic treatment for this bacteria. This literature review highlights the need for further antimicrobial susceptibility testing on *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis isolates before being considered as a first-line treatment.

Key words: *C. pseudotuberculosis*, biovar ovis, sensitivity, antimicrobials.

INTRODUCCIÓN

Corynebacterium pseudotuberculosis (*C. pseudotuberculosis*) biovar *ovis* es una bacteria intracelular facultativa gram positiva (Burkovski, 2018), es un microorganismo patógeno de importancia zoonótica (Heggelund et al., 2015; Fernández et al., 2018) responsable de la Linfadenitis caseosa (LC) que afecta principalmente a los pequeños rumiantes (Arsenault et al., 2003; Williamson, 2001) en diferentes países del mundo (Dorella et al., 2006) y en México (Parise et al., 2018; Varela et al., 2018). *C. pseudotuberculosis* se puede clasificar en dos biovars dependiendo de su capacidad para reducir nitratos (Almeida et al., 2017), el biovar *ovis* que afecta a animales como ovejas y cabras (Varela et al., 2018), y el biovar *equi* que infecta a animales como el caballo (Muñoz et al., 2016). Es un agente patógeno capaz de sobrevivir y crecer en macrófagos, lo que puede ser un factor de escape para el sistema inmunológico del hospedero (McKean et al., 2005; Paton et al., 1994). Una característica importante de este microorganismo en su estructura es la presencia de una pared celular compuesta principalmente por peptidoglicanos, arabinogalactano y ácidos micólicos, y el alto contenido de guaninas y citosinas en su genoma (Guimarães et al., 2011). La terapia de la LC con antibióticos por lo general no se considera efectiva, ya que los antimicrobianos no pueden penetrar las lesiones fuertemente encapsuladas (East, 1998). La ineficacia de la terapia farmacológica se debe a la dificultad que tiene la gran mayoría de los antibióticos para atravesar la membrana de los granulomas, no llegando así a la región donde se encuentran la mayor parte de las bacterias (Dorella et al., 2006; Santos et al., 2016), sin embargo, es una alternativa para disminuir los efectos adversos de la enfermedad en animales de alto valor genético y reproductivo, mediante la administración de antibióticos cuando se diagnostica la infección en fase temprana. El éxito del tratamiento dependerá de la selección del antibiótico apropiado, considerando la farmacocinética, la farmacodinamia y el sitio de la infección (Rhodes et al., 2015). El objetivo de este artículo fue realizar una revisión bibliográfica sobre la sensibilidad y resistencia antimicrobiana en aislados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis*. Se presenta una breve descripción de la enfermedad por *C. pseudotuberculosis*, su sensibilidad antimicrobiana a diferentes antibióticos reportados, los métodos utilizados y los inconvenientes que se presentan.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LA ENFERMEDAD

La LC se presenta en forma cutánea y visceral, con la formación de abscesos en ganglios linfáticos superficiales palpables a través de la piel y abscesos en órganos importantes como los pulmones, hígado, bazo y riñón (Mahmood et al., 2015; Odhah et al., 2019), causando deterioro en la condición orgánica del animal hacia estados caquéticos de curso crónico (Estevao et al., 2007), provocando el deterioro en las condiciones físicas de los animales y la disminución de la producción de lana (Paton et al., 1994), carne (Collet et al., 1994) y leche (Schreuder et al., 1990), así como desordenes reproductivos (Faeza et al., 2019). Las lesiones externas aparecen inicialmente como abscesos y más tarde pueden evolucionar a piogranulomas variando en tamaño desde unos milímetros hasta centímetros. Las lesiones viscerales no son detectadas clínicamente, pero se expresarán dependiendo la cantidad, sitio y efecto sobre el órgano involucrado (Santa et al., 2016). Las lesiones en abscesos cutáneos y ganglios linfáticos pueden ser ocasionadas por diferentes especies de microorganismos patógenos, como *C. pseudotuberculosis*, *Staphylococcus coagulans* negativos, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Actinobacillus lignieresis*, *Arcanobacterium pyogenes* y *S. aureus*, entre otros, destacándose el primero por su frecuencia en ovinos y caprinos (Batey, 1986; Andrade et al., 2012).

FACTORES DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

La resistencia actual de los agentes patógenos a los antimicrobianos constituye un serio problema de salud en todo el mundo y un reto aún mayor para el futuro. Se han realizado investigaciones en diversos países con el objetivo de conocer los mecanismos y causas que hacen posible esta resistencia y la creación de nuevos productos farmacéuticos y naturales para hacerle frente (Serra, 2017). La resistencia bacteriana puede ser natural o intrínseca y adquirida, y debe ser analizada desde varios puntos de vista (farmacocinético, farmacodinámico, poblacional, molecular y clínico) (Calderón y Aguilar, 2016). Las bacterias pueden presentar resistencia a los antibióticos como resultado de mutaciones cromosomales e intercambio de material genético de otras bacterias o fagos (virus que utilizan bacterias para su desarrollo y reproducción), a través de cuatro mecanismos (Cabrera et al., 2007): *Transformación*, que consiste en la transferencia o incorporación por una bacteria de ADN libre extracelular procedente de la lisis de otras bacterias (Abreu et al., 2011; Cabrera et al.,

2007; Moreno et al., 2009). *Transducción*, que es la transferencia de ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra mediante un bacteriófago (virus que infecta a bacterias) (Abreu et al., 2011; Moreno et al., 2009). *Transposición*, movimiento de una sección de ADN (transposón), que puede contener genes para la resistencia a diferentes antibióticos y otros genes casete unidos en equipo para la expresión de un promotor en particular (Cabrera et al., 2007), y, por último, *Conjugación*, mecanismo que consiste en el intercambio de material genético entre dos bacterias (donante y receptor), a través de una hebra sexual o contacto físico entre ambas (Abreu et al., 2011; Cabrera et al., 2007).

Diferentes investigaciones han reportado la resistencia a múltiples fármacos entre las especies del género *Corynebacterium* y recuperadas con poca frecuencia. Se han revisado varios mecanismos de resistencia, como mutaciones en el gen *gyrA* relacionado con la resistencia a quinolonas en *C. striatum*, *C. amycalatum* y *C. macginleyi* (Bernard y Funke, 2012). La presencia del gen *ermX* metilasa se ha relacionado definitivamente con el fenotipo de resistencia macrólido-lincosamida-estreptogramina B (MLS_B), expresado como resistencia a eritromicina y clindamicina, y asociado con resistencia a otros agentes antimicrobianos, incluidos cloranfenicol y trimetoprima-sulfametoxazol (Ortiz et al., 2010). Actualmente, existe un reporte sobre la resistencia a la daptomicina en una sola cepa de *C. jeikeium*, sin embargo, no se ha informado resistencia para ninguna cepa del género *Corynebacterium* analizada para linezolid y vancomicina (Bernard y Funke, 2012). Estudios han reportado bacterias corineformes resistentes a la vancomicina o bacterias corineformes con Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) elevados, y se considera inapropiado recomendar glicopéptidos como fármacos de primera línea para el tratamiento de infecciones, ya que algunas bacterias corineformes (por ejemplo: *Microbacterium resistens*) son intrínsecamente resistentes a la vancomicina (Funke y Bernard, 2011). La resistencia a antibióticos aminoglucósidos ha sido comunicada para las corinebacterias (Barberis et al., 2018), algunos estudios sugieren que el biovar *ovis* de *C. pseudotuberculosis*, que infecta a pequeños rumiantes (ovinos y caprinos), es resistente a los aminoglucósidos debido a mecanismos de impermeabilidad y se encuentran relacionados con la incapacidad de producir la enzima nitrato reductasa (Judson y Songer, 1991). Para el género *Corynebacterium* la adquisición y diseminación de resistencias a aminoglucósidos fue relacionada a la presencia de integrones (Schröder et al., 2012). La susceptibilidad a los antimicrobianos de *C. pseudotuberculosis*, descritos en esta revisión, no es predecible con base en la identificación por género

y especie. No hay pautas específicas para estos taxones (CLSI, 2010). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Foro Económico Mundial (FEM), la resistencia a los antibióticos es uno de los mayores problemas de Salud a nivel mundial (Cifuentes et al., 2012; Galán et al., 2014), por lo que se recomienda realizar un estudio exhaustivo de la enfermedad en todas las áreas de producción ovina y caprina del país, y también es importante identificar a las demás bacterias asociadas a la patología (Abebe y Sisay, 2015).

SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis*

En un estudio realizado por Muckle y Gyles (1982) sobre la sensibilidad antimicrobiana para el tratamiento de *C. pseudotuberculosis* se informó que todas las cepas que se utilizaron son sensibles a los antibióticos ampicilina, cloranfenicol, lincomicina, gentamicina, tetraciclina, Bencilpenicilina y sulfametoxazol-trimetoprima, de los cuales, solo tres aislamientos fueron sensibles a la neomicina y todas las cepas fueron resistentes a la estreptomina. En otro estudio realizado por Garg et al., (1985), se informó que las cepas de *C. pseudotuberculosis* son sensibles a la neomicina, pero muy resistentes a la penicilina. Uno de los principales antibióticos utilizados en el tratamiento de la LC es la penicilina, y a pesar de que se han notificado cepas resistentes, aún no está claro el mecanismo de resistencia de *C. pseudotuberculosis* (Baberis et al., 2018; Delgado et al., 2015; Rhodes et al., 2015). Posteriormente, se reportó que de 22 aislamientos de *C. pseudotuberculosis* de abscesos en ovejas y cabras se observó una cepa altamente resistente a la estreptomina (500µg/mL) (Pepin et al., 1989). Estudios han indicado una similitud de los valores de CIM entre las cepas *C. pseudotuberculosis* a los diversos agentes antimicrobianos (Adamson et al., 1985; Costa et al., 1998; Judson y Songer, 1991). Sin embargo, en un estudio de aislamientos de esta bacteria se realizaron pruebas con siete antibióticos mostrando patrones variados de susceptibilidad, presentando sensibilidad a antibióticos como norfloxacin, tetraciclina, doxiciclina HCl y kanamicina, mientras que con antibióticos como ampicilina, clindamicina y doxiciclina HCl se observaron resistencias (Skalka et al., 1989; Connor et al., 2007). En un estudio realizado por Olson et al., (2002) se realizó un cultivo de *C. pseudotuberculosis* como una biopelícula en un intento de reproducir el entorno de una infección natural en donde se observó que esta bacteria es altamente resistente a todos los fármacos

Tabla 1. Reportes de susceptibilidad de *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis* a diferentes antimicrobianos

Antibióticos	Susceptibilidad	Referencias
Ampicilina	Sensible	Muckie y Gyles, 1982
	Resistente	Skalka et al., 1989; Connor et al., 2007
Cloranfenicol, lincamicina, bencilpenicilina y Sulfametoxazol-trimetoprima	Sensible	Muckie y Gyles, 1982
Gentamicina	Sensible	Muckie y Gyles, 1982; Gallardo et al., 2019
Tetraciclina	Sensible	Muckie y Gyles, 1982; Skalka et al., 1989; Connor et al., 2007; Gallardo et al., 2019
Neomicina	Sensible	Muckie y Gyles, 1982; Garg et al., 1985
Estreptomina	Resistente	Muckie y Gyles, 1982; Pepin et al., 1989
	Resistente	Garg et al., 1985
Penicilina	Sensible	Gallardo et al., 2019
	Resistente	
Norfloxacin	Sensible	
Clindamicina	Resistente	
Doxiciclina HC1	Sensible, resistente	Skalka et al., 1989; Connor et al., 2007
Kanamicina	Sensible	
Rifamicina-oxitetraciclina	Sensible	Senturk y Temizel, 2006
Nitrofurantoina, furazolidona y estreptomina	Resistente	Li et al., 2018
Vancomicina	Sensible	Li et al., 2018; Gallardo et al., 2019
	Sensible	Li et al., 2018
Norfloxacin, cefradina, claritromicina, cefepima, amoxicilina, cefoxitina, levofloxacin y minociclina	Sensible	
Cefotaxima, ciprofloxacina y eritromicina	Sensible	Gallardo et al., 2019
Fuente: Elaboración propia.		

que probaron en tales condiciones de crecimiento. Y significativamente, otro informe afirmó el éxito del tratamiento de ovejas infectadas con *C. pseudotuberculosis* con una combinación de los antibióticos rifamicina y oxitetraciclina (Senturk y Temizel, 2006). Un estudio más reciente demostró una alta sensibilidad de los aislados de *C. pseudotuberculosis* a los agentes antimicrobianos comerciales mediante la prueba de difusión en disco, excepto para el antimicrobiano oxacilina, al cual los aislados fueron resistentes (Mattos et al., 2018). Mientras que otro estudio del mismo año reportó aislados de *C. pseudotuberculosis* con sensibilidad a la mayoría de los antibióticos utilizados en el trabajo con tasas de resistencia por debajo del 15%, a excepciones de antibióticos como nitrofurantoina y furazolidona, quienes mostraron resistencia del 100% y estreptomina con resistencia del 18.42%, y en donde antibióticos como vancomicina, norfloxacina, cefradina, claritromicina y cefepima mostraron más sensibilidad a *C. pseudotuberculosis* seguidos de amoxicilina, cefoxitina, levofloxacin y minociclina (Li et al., 2018). En 2019 un estudio reportó aislamientos de *C. pseudotuberculosis* con sensibilidad a los antibióticos cefotaxima, ciprofloxacina, eritromicina, tetraciclina y vancomicina, en donde

los compuestos más eficaces fueron ciprofloxacina y eritromicina, seguidos por tetraciclina, esto considerando los valores de CIM. En cuanto a los antibióticos gentamicina y penicilina los aislamientos mostraron sensibilidad intermedia (Gallardo et al., 2019) (tabla 1). El patrón de susceptibilidad de *C. pseudotuberculosis* a los agentes antimicrobianos ha variado entre los aislamientos obtenidos de diversas fuentes (Connor et al., 2000; Connor et al., 2007; Foley et al., 2004; Skalka et al., 1989). Por lo que se requieren más estudios antes de que el tratamiento de los casos de Linfadenitis caseosa con antibióticos se convierta en una alternativa viable al sacrificio (Baird, 2006).

MÉTODOS UTILIZADOS EN SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

A continuación, se describen los métodos *in vitro* utilizados en las pruebas de sensibilidad de *C. pseudotuberculosis* a diferentes antimicrobianos:

Método de dilución

La CIM se puede realizar por el método epsilométrico, basado en el uso de tiras inertes impregnadas con gradientes de los antibióticos ($\mu\text{g/ml}$). Los resultados se registran a las 24 h y se reafirman a las 48 h. Se interpreta el valor de la CIM en $\mu\text{g/ml}$, obtenido de la intersección entre la concentración dada por la tira reactiva y el crecimiento bacteriano que forma una elipse (Gallardo et al., 2019). Los datos se pueden analizar de acuerdo con los criterios establecidos por CLSI para *Corynebacterium* spp. (CLSI, 2016).

Método de microdilución

Para este método se pueden utilizar suspensiones bacterianas equivalentes a un estándar de McFarland de 0,5 incubadas en caldo Mueller-Hinton ajustado por cationes con 2 a 5% (vol/vol) de sangre lisada a 35 °C a medio ambiente durante un máximo de 48 h (Bernard y Funke, 2012). El Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) ha publicado condiciones de prueba y criterios interpretativos para las pruebas de susceptibilidad de *C. pseudotuberculosis* usando un método de microdilución en caldo (CLSI, 2010).

Método de difusión en disco

Los patrones de sensibilidad antimicrobiana de los aislados de *C. pseudotuberculosis* se pueden determinar utilizando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer (Quinn et al., 1994). Se inoculan colonias puras en 5 ml de caldo nutritivo y se incuban a 37 °C durante 24 h hasta que se observó turbidez y posteriormente se comparan con los estándares de 0,5 McFarland. Los aislados deben ser sembrados utilizando un hisopo estéril en agar nutritivo y después los discos impregnados con antibióticos se aplican sobre la superficie de las placas inoculadas con pinzas estériles. Las placas se invierten y se incuban sin la presencia de oxígeno durante 24 h a 37 °C (Abebe y Sisay, 2015).

Método de difusión en agar

Este método se emplea mediante agar Mueller-Hinton suplementado con sangre de ovino al 5%, las placas se incuban a 37 °C en atmósfera normal, las lecturas de los halos de inhibición se evalúan a las 24 h y se confirman posteriormente a las 48 h (Estevao et al., 2007; Funke et al., 1997). Para la interpretación de los resultados se pueden utilizar los valores recomendados por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para *Staphylococcus* spp., los cuales fueron validados por estudios previos debido a que no hay valores de corte que asignen categorías interpretativas para aislados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* mediante este método (Funke et al., 1997).

INCONVENIENTES DEL TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICOS

En estudios *in vitro*, se ha demostrado que *C. pseudotuberculosis* es sensible a una gran variedad de antibióticos químicos. En pruebas estándar de laboratorio, se ha demostrado que las clases de antibióticos más utilizadas previenen el crecimiento y la multiplicación de bacterias (Muckle y Gyles, 1982; Judson y Songer, 1991). Sin embargo, aunque *C. pseudotuberculosis* en estudios *in vitro* ha mostrado sensibilidad a una gran variedad de antibióticos (Gallardo et al., 2019), el tratamiento de manera *in vivo* es difícil debido a la naturaleza intracelular de la bacteria (Stefanska et al., 2010) y el contenido grueso, seco y fibroso del absceso (Williamson, 2001; Aleman y Spier, 2002), por lo que es probable que la actividad *in vivo* se limite a fármacos con buena solubilidad lipídica y actividad intracelular, como por ejemplo, macrólidos y fluoroquinolonas (Gallardo et al., 2019). La naturaleza intracelular del microorganismo patógeno durante partes del ciclo de la enfermedad confiere cierta protección frente a ciertos antibióticos comúnmente empleados. Se ha sugerido el tratamiento quirúrgico de las lesiones externas como alternativa al sacrificio en el caso de animales particularmente valiosos (Davis, 1990). Por ejemplo, que la lesión se extirpe de manera quirúrgica y se lave diariamente hasta que cicatrice, y se recomienda un tratamiento antibiótico parenteral durante 4 a 6 semanas para reducir la probabilidad de recurrencia. Sin embargo, este método se considera poco confiable en el mejor de los casos, ya que depende del antibiótico para eliminar todos los microorganismos infecciosos de las lesiones tratadas, sin la presencia de lesiones internas (Rizvi et al., 1997).

CONCLUSIONES

Esta revisión de literatura destaca la necesidad de realizar más estudios de susceptibilidad antimicrobiana para aislamientos de *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis* clínicamente relevantes, ya que la Linfadenitis caseosa representa un gran reto para las unidades de producción de ovinos y caprinos a nivel mundial. Actualmente, se conoce la alta sensibilidad y resistencia de *C. pseudotuberculosis* a los diferentes antibióticos convencionales, sin embargo, es de suma importancia conocer el perfil de actividad de los antibióticos por la gran variabilidad de respuesta que han presentado diferentes aislados de este microorganismo patógeno, antes de considerar a los antimicrobianos como de primera elección para el tratamiento.

REFERENCIAS

- Abebe, D., Sisay Tessema, T. (2015). Determination of *Corynebacterium pseudotuberculosis* prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of isolates from lymph nodes of sheep and goats at an organic export abattoir, Modjo, Ethiopia. *Lett Appl Microbiol*, 61(5):469-76. <http://dx.doi.org/10.1111/lam.12482>.
- Abreu, O., Alpuche, C., Arathoon, E., Arbo, A. (2011). *Tratamiento de las enfermedades infecciosas*. Washington, D.C: OPS.
- Adamson, P.J., Wilson, W.D., Hirsh, D.C., Baggot, J.D., Martin, L.D. (1985). Susceptibility of equine bacterial isolates to antimicrobial agents. *Am J Vet Res*, 46(2):447-50.
- Andrade, J.S.L., Azevedo, S.S., Andreey, J.A.T., Higino, S.S.S., Azevedo, E.O. (2012). Occurrence and risk factors associated with the *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep and goats from the semiarid region of the Paraíba state, Northeastern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(2):116-120.
- Aleman, M.R., Spier, S.J. (2002). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. En Smith, P.B. (ed.). *Large animal internal medicine*. St. Louis: Mosby Co; pp. 1076-1084.
- Almeida, S., Dorneles, E.M.S., Diniz, C., Abreu, V., Sousa, C., Alves, J., Carneiro, A., Bgano, P., Spier, S., Barh, D., Lage, A., Figueiredo, H., Azevedo, V. (2017). Quadruplex PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* differentiating biovar *Ovis* and *Equi*. *BMC Vet Res*, 13(1): 290. <http://dx.doi.org/10.1186/s12917-017-1210-5>.
- Arsenault, J., Girard, C., Dubreuil, P., Daignault, D., Galarneau, J.R., Boisclair, J, Simard, C., Bélanger, D. (2003). Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. *Canada Preventive Veterinary Medicine*, 59(1-2):67-81.
- Baird, G. (2006). Treatment of ovine caseous lymphadenitis. *Vet Rec*, 159(15):500. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.159.15.500>.
- Barberis, C.M., Sandoval, E., Rodríguez, C.H., Ramirez, M.S., Famiglietti, A., Almuzara, M., Vay, C. (2018). Comparison between disk diffusion and agar dilution methods to determine in vitro susceptibility of *Corynebacterium* spp. clinical isolates and update of their susceptibility. *J Glob Antimicrob Resist*, (14):246-252. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2018.05.009>.
- Batey, R.G. (1986). Frequency and consequence of caseous lymphadenitis in sheep and lambs slaughtered at a Western Australian abattoir. *Am J Vet Res*, 47(2):482-5.
- Bernard, K.A., Funke, G. (2012). Genus *Corynebacterium*. En W.B. Whitman, M. Goodfellow, P. Kämpfer, H. Busse, M.E. Trujillo, W. Ludwig, K. Suzuki and A. Parte (eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 5. New York: Springer, pp. 245-289.
- Burkovski, A. (2018). The role of corynomycolic acids in *Corynebacterium*-host interaction. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(5):717-25. <http://dx.doi.org/10.1007/s10482-018-1036-6>.
- Cabrera, C., Gómez, R., Zúñiga, A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica del Valle*, 38(2):149-158.
- Calderón, R.G., Aguilar, U.L. (2016). Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, LXXIII(621):757-63.
- Cifuentes, M., Silva, F., García, P., Bello, H., Briceño, I., Calvo, M., Labarca, J. (2012). Susceptibilidad antimicrobiana en Chile 2012. *Revista Chilena de Infectología*, 31(2):123-30.
- CLSI (2016). *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria*. M45-3rd Edition. Wayne, PA, EE.UU.
- CLSI (2010). *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline-second edition*. M45-A2, vol 30, no. 18. Wayne, PA.
- Collett, M.G., Bath, G.F., Cameron, C.M. (1994). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. En: Coetzer, J., Thomson, G.R., Justin, R.C. (ed.). *Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa*. Cape Town, South Africa: Oxford University Press, pp. 1387-1395.
- Connor, K.M., Fontaine, M.C., Rudge, K., Baird, G.J., Donachie, W. (2007). Molecular genotyping of multinational ovine and caprine *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates using pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Research*, 38(4):613-623.
- Connor, K.M., Quirie, M.M., Baird, G., Donachie, W. (2000). Characterization of United Kingdom isolates of *Corynebacterium pseudotuberculosis* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol*, 38(7):2633-7. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.38.7.2633-2637.2000>.
- Costa, L.R., Spier, S.J., Hirsh, D.C. (1998). Comparative molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* of different origin. *Vet Microbiol*, 62(2):135-43. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-1135\(98\)00202-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-1135(98)00202-8).

- Davis, E.W. (1990). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in animals. En: B.P. Smith, *Large Animal Internal Medicine*. Ed. C.V. Mosby Company. Toronto. pp. 1120-1126.
- Delgado Duno, A., Zárraga, J., Chirino-Zárraga, C.I., Portillo, C. (2015). Caracterización epidemiológica de la linfadenitis caseosa en rebaños caprinos de la península de Paraguaná, Venezuela. *Rev Med Vet*, (31):35-45.
- Dorella, F.A., Pacheco, L.G.C., Oliveira, S.C., Miyoshi, A., Azevedo, V. (2006). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. *Vet Res*, 37(2):201-218. <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2005056>.
- East, N.E. (1998). Common infectious conditions in proceeding small ruminants for the animal practitioner. En: Western Veterinary Conference. p. 120-112.
- Esteveao, B.S., Gallardo, A., Ábalos, A., Díaz, Y., Álvarez, L., Callejo, R., Prieto, M. Jodor, N. Jensen, O. (2007). Diagnóstico de pseudotuberculosis en ovinos patagónicos. *Revista Argentina de Microbiología*, 39(1):44-6.
- Faeza, N.M.N., Jesse, F.F.A., Hambali, I.U., Odhah, M.N., Umer, M., Wessam, M.M.S., Mohd-Azmi, M.L., Wahid, A.H. (2019). Responses of testosterone hormone concentration, semen quality, and its related pro-inflammatory cytokines in bucks following *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its mycolic acid infection. *Trop Anim Health Prod*, 51(7):1855-1866. <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-019-01878-2>.
- Fernández, A.M., Reina, G., Rubio, M., Leiva, J. (2018). Infecciones por *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. y *Listeria* spp. *Medicine*, 12(49):2901-9.
- Foley, J.E., Spier, S.J., Mihalyi, J., Drazenovich, N., Leutenegger, C.M. (2004). Molecular epidemiologic features of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from horses. *Am J Vet Res*, 65(12):1734-7. <http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.1734>.
- Funke, G., Bernard, K.A.J., Carroll, K.C., Funke, G., Jorgensen, J.H., Landry, M.L. (2011). *Manual of clinical microbiology*. En: Versalovic. Washington, DC: ASM Press.
- Funke, G., von Graevenitz, A., Clarridge J.E., Bernard, K.A. (1997). Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev*, 10(1):125-59. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.10.1.125-159.1997>.
- Galán, J., Borarull, A., Baquero, F. (2014). Impacto de los movimientos migratorios en la resistencia bacteriana a los antibióticos. *Revista Española Salud Pública*, (88):829-37.
- Gallardo, A.A., Toledo, R.A., González Pasayo, R.A., Azevedo, V., Robles, C., Paolicchi F.A., Esteveao, S.G. (2019). *Corynebacterium pseudotuberculosis biovar ovis*: evaluación de la sensibilidad antibiótica *in vitro*. *Rev Argent Microbiol*, 51(4):334-338. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2018.12.001>.
- Garg, D.N., Nain, S.P.S., Chandiramani, N.K. (1985). Isolation and characterization of *Corynebacterium ovis* from sheep and goats. *The Indian Veterinary Journal*, (62):805-8.
- Guimarães, A.S., Carmo, F.B., Heinemann, M.B., Portela, R.W.D., Meyer, R., Lage, A.P., Seyffert, N. Miyosgi, A., Azevedo, V., Gouveia, A.M.G. (2011). High sero-prevalence of caseous lymphadenitis identified in slaughterhouse samples as a consequence of deficiencies in sheep farm management in the state of Minas Gerais, Brazil. *BMC Vet Res*, 8(7):68. <http://dx.doi.org/10.1186/1746-6148-7-68>.
- Heggelund, L., Gaustad, P., Håvelsrud, O.E., Blom, J., Borgen, L., Sundset, A., Sørum, H., Frøland, S.S. (2015). *Corynebacterium pseudotuberculosis* pneumonia in a veterinary student infected during laboratory work. *Open Forum Infect Dis*, 2(2):ofv053. <http://dx.doi.org/10.1093/ofid/ofv053>
- Judson, R., Glenn Songer, J. (1991). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: *in vitro* susceptibility to 39 antimicrobial agents. *Vet Microbiol*, 27(2):145-50. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-1135\(91\)90005-z](http://dx.doi.org/10.1016/0378-1135(91)90005-z).
- Li, H., Yang, H., Zhou, Z., Li, X., Yi, W., Xu, Y., Wang, Z., Hu, S. (2018). Isolation, antibiotic resistance, virulence traits and phylogenetic analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from goats in southwestern China. *Small Rumin Res*, (168):69-75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.09.015>.
- Mahmood, Z.K.H., Jesse, F.F., Saharee, A.A., Jasni, S., Yusoff, R., y Wahid, H. (2015). Clinico-pathological changes in goats challenged with *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its exotoxin (PLD). *Am J Anim Vet Sci*, 10(3): 112-132. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2015.112.132>.
- Mattos, M. M., Santos, L. M., Portela, R. W., & Araújo, R. P. C. de. (2018). Sensibilidade *in vitro* a antimicrobianos de *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolados de pequenos ruminantes da região Centro-Norte do Estado da Bahia. *Revista De Ciências Médicas E Biológicas*, 17(3), 330-336. <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v17i3.28627>.
- Mckean, S., Davies, F., Moore, R. (2005). Identification of macrophage induced genes of *Corynebacterium pseudotuberculosis* by differential fluorescence induction. *Microbes infect*. Paris, 7(13),1352-1363.
- Moreno, C., González, R., Beltrán, C. (2009). Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Revista Otorrinolaringología Cirugía Cabeza y Cuello*, (69):185-92.
- Muckle, C.A., Gyles, C.L. (1982). Characterization of strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Can J Comp Med.*, 46(2):206-208.

- Muñoz, B.A.V., Cortés, P.Y.A., Arellano, R.B., Hernández, G.M., Hernández, C.R., Díaz, A.E. (2016). Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from muscular abscesses in two horses: First report in Mexico. *Equine Veterinary Education*, 29(8):431-5.
- Odhah, M.N., Jesse, F.F.A., Teik, C.E.L., Mahmood, Z., Wahid, H.A., Mohd, L.M.A., y otros. (2019). Clinico-pathological responses and PCR detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its immunogenic mycolic acid extract in the vital organs of goats. *Microb Pathog*, 135, 103628. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103628>.
- Olson, M.E., Ceri, H., Morck, D.W., Buret, A.G., Read, R.R. (2002). Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res*, 66(2):86-92.
- Ortiz, P.A., Martín, H.N.Z., Esteban, J., Fernández, N.M.I., García, C.J.I., Fernández, R.R. (2010). High frequency of macrolide resistance mechanisms in clinical isolates of *Corynebacterium* species. *Microbial Drug Resistance*, (16):273-277.
- Paton, M.W., Rose, I.R., Hart, R.A., Sutherland, S.S., Mercy, A.R., Ellis, T.M., Dhaliwal, J.A. (1994). New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. *Aust Vet J*, 71(2):47-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1994.tb06152.x>.
- Parise, D., Parise, M.T.D., Viana, M.V.C., Muñoz-Bucio, A.V., Cortés-Pérez, Y.A., Arellano-Reynoso, B., Díaz-Aparicio, E., Dorella, F.A., Pereira, F.L., Carvalho, A.F., Figueiredo, H.C.P., Ghosh, P., Barh, D. Gomide, A.C.P., Azevedo, V.A.C. (2018). First genome sequencing and comparative analyses of *Corynebacterium pseudotuberculosis* strains from Mexico. *Stand Genomic Sci*, 13(1):21. <http://dx.doi.org/10.1186/s40793-018-0325-z>.
- Pépin, M., Boisramé, A., Marly, J. (1989). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: biochemical properties, production of toxin and virulence of ovine and caprine strains. *Ann Rech Vet*, 20(1):111-115.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R. (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. London: Mosby International Limited.
- Rhodes, D.M., Magdesian, K.G., Byrne, B.A., Kass, P.H., Edman, J., Spier, S.J. (2015). Minimum inhibitory concentrations of equine *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates (1996-2012). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(1):327-332.
- Rizvi, S., Green, L.E., Glover, M.J. (1997). Caseous lymphadenitis: an increasing cause for concern. *Veterinary Record*, 140(22):586-7.
- Santana, J.K.T.O., Santos, T.M., Tartaglia, N.R., Aguiar, E.L., Souza, R.F.S., Mariutti, R.B., Eberle, R.J., Arni, R.K., Portela, R.W., Meyer, R., Azevedo, V. (2016). Putative virulence factors of *Corynebacterium pseudotuberculosis* FRC41: vaccine potential and protein expression. *Microb Cell Fact*, (15):83.
- Santos, E.M.S. (2016). Antígenos de *Corynebacterium pseudotuberculosis* com potencial promissor para o desenvolvimento de vacinas contra linfadenite caseosa: uma revisão de literatura. *Cad Ciênc Agrá*, 8(2):90-99.
- Schröder, J., Maus, I., Meyer, K., Wördemann, S., Blom, J., Jaenicke S., Schneider, J., Trost, E., Tauch, A. (2012). Complete genome sequence, lifestyle, and multi-drug resistance of the human pathogen *Corynebacterium* resists DSM 45100 isolated from blood samples of a leukemia patient. *BMC Genomics*, 13(1):141. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-13-141>.
- Senturk, S., Temizel, M. (2006). Clinical e/cacy of rifamycin SV combined with oxytetracycline in the treatment of caseous lymphadenitis in sheep. *Veterinary Record*, (159):216-7.
- Schreuder, B.E., Ter Laak, E.A., De Gee, A.L. (1990). *Corynebacterium pseudotuberculosis* in milk of CL affected goats. *Vet Rec.*, 127(15):387.
- Serra, V.M.A. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16(3):402-19.
- Skalka, B., Literak, I., Michalik, I., Skrivanek, M. (1989). *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, (45):31-5.
- Stefańska, I., Gieryńska, M., Rzewuska, M., Binek, M. (2010). Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* within macrophages and induction of phagocytes death. *Pol J Vet Sci*, 13(1):143-9.
- Varela, G.J.A., Montes De Oca, J.R., Acosta, D.J., Hernández, L.F., Morales, E.V., Monroy, S.H.G. (2018). Isolation and molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from sheep and goats in México. *Microbial Pathogenesis*, (117):304-9.
- Williamson, L.H. (2001). Caseous lymphadenitis in small ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 17(2):359-71, vii. [http://dx.doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30033-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30033-5).