

**Análisis de los mecanismos de
resistencia antimicrobiana en
*Corynebacterium pseudotuberculosis***

Dan Israel Zavala-Vargas.
Roberto Montes-de-Oca-Jiménez.
Martha Elba Ruiz-Riva-Palacio.
Pilar Eliana Rivadeneiro-Barreiro.
Pablo Cleomenes Zambrano-Rodríguez.
Pedro Sánchez Aparicio.





Resumen

Corynebacterium pseudotuberculosis biovar *ovis* (*C. pseudotuberculosis*), es un cocobacilo Gram positivo no esporulado, anaerobio facultativo y es el patógeno causante de la linfadenitis caseosa la cual es una enfermedad que genera grandes pérdidas económicas tanto a la ganadería nacional como la internacional. La enfermedad afecta la condición y rendimiento físico del animal, ocasiona baja producción de leche y carne. Existen vacunas comerciales disponibles a nivel mundial preventivas; sin embargo, la protección que confieren no es completamente eficaz en el control de la enfermedad. El tratamiento antibiótico es una opción viable para su tratamiento en las fases iniciales de la infección; sin embargo, muy poco eficaz en procesos crónicos. Por otro lado, el aumento de reportes de infecciones generadas por *C. pseudotuberculosis* multirresistentes incrementa la dificultad para tratar la linfadenitis casera. Por lo que el estudio de los mecanismos de resistencia antibacteriana es vital para comprender su complejo desarrollo evolutivo y optimizar la elección farmacológica para su tratamiento. En este capítulo se hace un análisis de los principales mecanismos de resistencia antibacteriana que han sido reportados en *C. pseudotuberculosis*.

Palabras clave: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, linfadenitis caseosa, resistencia antibacteriana, antibióticos.



Introducción

Entre las enfermedades producidas por *C. pseudotuberculosis* se encuentran la linfangitis ulcerosa de los bovinos y equinos, la artritis supurativa y contagiosa en corderos, la orquitis supurativa en carneros y el acné contagioso en equinos, este último el de mayor relevancia. La linfadenitis caseosa consiste en la formación de abscesos en los nódulos linfáticos superficiales y en los órganos internos de los pequeños rumiantes. Esta patología está distribuida en zonas de producción ovina y caprina en todo el mundo y ocasiona grandes pérdidas económicas. Provoca deterioro general de los animales enfermos y reduce la producción de lana, carne y leche. También afecta de manera negativa el valor económico de los animales de raza y las carcasas de exportación, que son afectadas negativamente. Los signos clínicos relacionados con esta patología son; adenomegalia unilateral y presencia de abscesos o nódulos abscedados en el tejido subcutáneo y las zonas más afectadas por estos abscesos son la región de la cabeza, mejillas, región cervical y región del pecho. *C. pseudotuberculosis* se divide en dos biovars; biovar *ovis* y biovar *equi* diferenciados por los resultados de la prueba de reducción de nitrato. Aunque estos biovars no muestran una adaptación estricta al hospedero, los resultados de algunos estudios y principalmente los datos de secuenciación depositados en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), muestran que el biovar *ovis* se aísla principalmente de infecciones en pequeños rumiantes y el biovar *equi* de caballos y grandes rumiantes. Las vacunas disponibles comercialmente contra *C. pseudotuberculosis* no han logrado una protección completa. El tratamiento en fases iniciales de la infección es eficaz; sin embargo, la forma crónica de la infección hace complicado el tratamiento por el desarrollo de lesiones abscedativas con una capa gruesa y múltiple de tejido conjuntivo. Además, el tratamiento con antimicrobianos para *C. pseudotuberculosis* ha mostrado ser portador de diferentes mecanismos de resistencia.

La Resistencia antimicrobiana (RAM), es un proceso evolutivo estocástico, basado en una reacción específica de los microorganismos para sobrevivir a la exposición a los antibióticos. Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos se produce en un sistema ecobiológico extremadamente complejo y variable que abarcan todo el planeta y en el que intervienen muchas otras causas. En la RAM la existencia de causas no implica lógica en la evolución de la resistencia, que es un proceso ciego basado fundamentalmente en el azar. Lo que dificulta la capacidad de predecir el comportamiento de la RAM, basado en secuencias de resistencia, uso de antimicrobianos, adaptaciones ambientales o pruebas bioquímicas.

La resistencia a los antimicrobianos puede ser de origen intrínseco o adquirido. La resistencia intrínseca se manifiesta de manera constante en una especie bacteriana, esta forma de resistencia se considera un rasgo característico y común de toda la especie bacteriana, y no tiene relación con la transferencia horizontal de genes. Mientras que la adquirida puede ser inducida; en este caso, los genes responsables están presentes en el



genoma bacteriano, pero solo se activan y expresan niveles de resistencia tras la exposición a un antibiótico, aunque la presencia de los genes de resistencia no depende directamente de dicha exposición. Entre los mecanismos más frecuentes asociados a la resistencia intrínseca se encuentran la disminución en la permeabilidad de la membrana externa y la actividad natural de las bombas de eflujo. Estas bombas, especialmente las que expulsan múltiples fármacos.

En el caso de la resistencia adquirida, las bacterias pueden incorporar material genético que les confiere resistencia a través de tres mecanismos principales: transformación, transposición y conjugación, procesos conocidos en conjunto como transferencia horizontal de genes. Además, las bacterias pueden desarrollar resistencia mediante mutaciones en su propio ADN cromosómico. Dichas mutaciones pueden ser transitorias o permanentes y producirse por la acción de agentes físicos o químicos. Generalmente, las mutaciones que favorecen la resistencia antimicrobiana afectan un número limitado de genes, entre ellos los que codifican los sitios de acción de los fármacos, los transportadores de fármacos, los reguladores de estos transportadores y las enzimas encargadas de modificar los antibióticos.

C. pseudotuberculosis, al igual que otros microorganismos patógenos de relevancia en medicina veterinaria, presenta el grave problema de la resistencia antimicrobiana, producto del proceso evolutivo y de la presión selectiva ejercida por el ser humano. Es importante señalar que los mecanismos de resistencia no surgieron como una respuesta al uso continuo de antibióticos por parte del sector ganadero, sino que son mecanismos que originalmente tenían otra función dentro del ciclo de replicación celular de este patógeno y posteriormente se adaptaron como un mecanismo de supervivencia frente a estímulos ambientales. Estos mecanismos incluyen la tolerancia, evasión, expulsión o modificación de antibióticos, mediante la selección de las bacterias mejor capacitadas para sobrevivir.

Zavala-Vargas y colaboradores, 2025 ha logrado predecir 35 secuencias codificadoras de genes de resistencia antibacteriana, entre los cuales se encuentran mecanismos como; bombas de eflujo de antibiótico, inactivación de antibióticos, alteración de diana antibiótica, sustitución de objetivos antibióticos, protección antibiótica y permeabilidad reducida de antibiótico. Comprender la relación entre la expresión del genotipo es crucial para la elección de un buen antibiótico para su tratamiento.

Mecanismos de RAM reportados en *C. pseudotuberculosis*

C. pseudotuberculosis además de contar con mecanismos de resistencia antibacteriana expresados a partir de genes. Utiliza una serie de mecanismos que se han denominado intrínsecos; estos son una serie de características bioquímicas y estructurales que no



dependen necesariamente de la exposición a antibióticos para estimular su resistencia, sino que son características físicas de la bacteria como el piogranuloma que induce, los ácidos micólicos y el biofilm o biopelícula. A continuación, se mencionan los principales mecanismos de resistencia observados en *C. pseudotuberculosis* y su funcionamiento.

Piogranuloma

El absceso generado por *C. pseudotuberculosis* en la etapa tardía contiene pus de color amarillo verdoso que evoluciona hacia una lesión laminada múltiple, semejante a “anillos de cebolla”. Se caracteriza por piogranulomas y necrosis que comprimen el tejido circundante. El centro del absceso está formado por un núcleo necrótico y material purulento o caseoso, infiltrado principalmente por polimorfonucleares neutrófilos en diversas etapas de necrosis y rodeado por una capa delgada de neutrófilos polimorfonucleares activos. El material necrótico purulento está rodeado por un manto periférico de tejido conectivo y se acompaña de infiltrado inflamatorio compuesto por polimorfonucleares neutrófilos, macrófagos, células epitelioides, linfocitos y células plasmáticas. Al escapar las bacterias de manera centrifuga se desarrollan otras capas de tejido conectivo e infiltrado inflamatorio, lo que da la apariencia macroscópica de lesión multilaminada o apariencia de “aros de cebolla”. Las lesiones crónicas muestran una cápsula gruesa de tejido conectivo fibroso maduro compuesta por fibroblastos bien organizados e infiltrados por algunas células inflamatorias como macrófagos y linfocitos. Este tipo de lesiones se observan en nódulos linfáticos, pulmón, hígado, riñón y glándula mamaria, entre otros. La lesión granulomatosa inducida por *C. pseudotuberculosis* participa en dos mecanismos de resistencia antibacteriana que deben considerarse para elegir un tratamiento adecuado. La capa gruesa de tejido conectivo maduro del piogranuloma generado por *C. pseudotuberculosis* impide el acceso del antibiótico a la bacteria blanco. Además, la disminución de pH dentro del núcleo necrótico de material licuado en algunos casos disminuye la eficacia del antibiótico.

Biofilm o biocapa

La capacidad de las bacterias del género *Corynebacterium* para producir biofilm se considera un importante factor de virulencia y un mecanismo de resistencia. Esta estructura es un agregado de microcolonias rodeadas por una matriz compuesta por polisacáridos, formando comunidades organizadas que permiten la adhesión a superficies biológicas y se caracteriza por una mayor resistencia a los antimicrobianos y biocidas en la fase crónica de la enfermedad. El biofilm es capaz de producirse tanto en superficies inertes como en orgánicas, lo que facilita las infecciones en el ámbito de la salud humana y veterinaria. Las bacterias se unen gracias a una matriz de biopolímero autoproducida. En cuanto a su composición, la biopelícula es una estructura heterogénea y está formada principalmente de células microbianas entre un 10 al 25% y una matriz conocida como



sustancia polimérica extracelular (SPE) que forma entre un 75 al 90% de la biopelícula este tipo de interacciones puede estar formado por una o más especies bacterianas que viven de forma sociomicrobiológica. La SPE proporciona estabilidad estructural y protección a la biopelícula, además consiste principalmente de exopolisacáridos, proteínas, lípidos y ADN extracelular (eDNA). La formación de SPE a pesar de los altos requerimientos energéticos y celulares proporciona a las células bacterianas un entorno bastante funcional, ya que favorecen la transferencia horizontal de genes y las interacciones intercelulares, mejora la captura de recursos y la adhesión a la superficie, ofrecen protección contra agentes externos especialmente antibióticos e inhiben la deshidratación bacteriana.

En relación con la resistencia antimicrobiana conferida por la bioplaca, actúa por medio de la reducción y la penetración, además cuenta con la presencia de bombas de eflujo bacteriana capaces de extraer los antibióticos fuera de la biopelícula. Las colonias bacterianas tienden a mostrar una resistencia 1000 veces mayor a los antibióticos en comparación con sus cepas planctónicas y crean interacciones entre múltiples especies que favorecen la transferencia horizontal de genes. Los polisacáridos son una fracción importante de la matriz de SPE tanto en bacterias Gram positivas como Gram negativas. Los exopolisacáridos pueden ser homopolisacáridos (glucanos, fructanos o celulosa); o en su mayoría heteropolisacáridos que consisten en una mezcla de residuos de azúcar neutros y cargados. Muchos exopolisacáridos conocidos como: el alginato, el xantano y el ácido colánico, todos ellos polianiónicos. También existen exopolisacáridos policatiónicos, como PNAG (poli- β -(1 \rightarrow 6)-N-acetilglucosamina) y Pel. Los polisacáridos en el SPE están involucrados en varias funciones en la formación y mantenimiento del biofilm. Permiten la colonización de superficies bióticas y abióticas por medio de células planctónicas que posibilitan la agregación de bacterias; estas forman una red polimérica hidratada que media la estabilidad mecánica del biofilm y previene la desecación bacteriana, lo que le confiere resistencia a la defensa específica y no específica del hospedero durante la infección y también son una fuente importante de nutrientes.

Por otro lado, el ADN incrustado en la matriz extracelular del biofilm cumple dos funciones principales: una función estructural y otra relacionada con la resistencia adquirida a los antibióticos. Se ha demostrado que, en *P. aeruginosa*, dicha resistencia se debía a una función desconocida del ADN extracelular (eADN) capaz de unirse y secuestrar cationes, incluido el magnesio, del entorno vecino. Además, se ha observado que el eADN incrementa la resistencia contra los péptidos antimicrobianos cationicos, como los aminoglucoídos. A medida que el eADN bacteriano se acumula, se produce una acidificación de la biopelícula alterando la fuerza motriz de protones de la membrana interna de las bacterias anaeróbicas, lo que dificulta la absorción de aminoglucoídos cargados positivamente. Además, se han propuesto otras posibles funciones del ADN



dentro del biofilm como actuar como reserva energética y nutricional, así como constituir un acervo genético que facilita la transferencia horizontal de genes entre bacterias naturalmente competentes.

Los componentes proteínicos de la matriz del biofilm incluyen proteínas extracelulares secretadas, adhesinas de la superficie celular y subunidades proteicas de apéndices celulares como flagelos y pili. Estas proteínas cumplen diversas funciones en la formación y disolución del biofilm. Participan en la adhesión de las células a las superficies, en la estabilización de la matriz del biofilm mediante interacciones con componentes de exopolisacáridos y ácidos nucleicos, en el desarrollo de arquitecturas tridimensionales del biofilm y en la disolución de la matriz a través de la degradación enzimática de polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos. El proteoma del biofilm es muy amplio y presenta características únicas que funcionan de manera sinérgica con otros componentes de la matriz, como los exopolisacáridos y el eADN. Las proteínas de la matriz se organizan en módulos o dominios dentro de los cuales se incluyen FnIII, FG-GAP, VCBS, lectina, dominios de unión a azúcares ricos en glicina y motivos de secuencia RGD que participan en la adhesión célula-célula y/o la unión a la matriz extracelular, las proteínas de la superficie celular o los carbohidratos. En análisis pan-genómicos se ha demostrado que *C. pseudotuberculosis* es una bacteria formadora de biofilm, lo cual podría representar una ventaja para facilitar la transferencia horizontal de genes.

Aunque se ha reportado la formación de biopelículas para *C. pseudotuberculosis*, no todas las cepas demuestran esta propiedad en cultivo. De Sá y en un análisis proteómico comparativo de una cepa formadora de biopelículas (CAPJ4) y una cepa no formadora de biopelículas (CAP3W) aislada de cabras. Se obtuvieron extractos de proteína de célula completa bacteriana para análisis de espectrometría de masas. Usando LC-MS/MS, observaron tres y cuatro proteínas encontradas exclusivamente en el proteoma CAPJ4 y CAP3W, respectivamente. Además, el análisis cuantitativo sin etiqueta identificó 40 proteínas que mostraban valores al menos 2 veces más altos en CAPJ4 en comparación con el proteoma CAP3W. En particular, CAPJ4 sintetizó diferencialmente la proteína de unión a la penicilina, que participa en la formación de peptidoglicanos. CAPJ4 también exhibió una regulación positiva de la N-acetilmuramoil-L-alanina amidasa y la galactosa-1-fosfato uridiltransferasa, que están involucradas en la formación de biopelículas y la biosíntesis de exopolisacáridos. Se ha concluido que la formación de biopelículas en *C. pseudotuberculosis* probablemente está asociada con proteínas específicas, algunas de las cuales previamente se demostró que están asociadas con la virulencia.

C. pseudotuberculosis presenta biopelículas con características definidas que varían en el tiempo y muestran perfiles proteómicos específicos, según lo evidencian estudios que emplearon espectroscopía Raman, microscopía electrónica y ensayos de adhesión. La composición bioquímica de sus biopelículas cambia a lo largo de 24, 48 y 72



horas, reflejando variaciones en componentes moleculares como anillos fenólicos y grupos carboxilos. La morfología se caracteriza por agregados celulares incrustados en una matriz extracelular robusta, con diferencias dependientes de la cepa. La susceptibilidad a antimicrobianos y desinfectantes varía, dependiendo tanto del agente empleado como de las condiciones ambientales. En contraste, un estudio en *Corynebacteriaceae* (evaluado en un contexto invertebrado) informa de biopelículas con arquitectura radial y estratificada, evidenciando diferencias en la organización espacial y función (actividad larvívora). La comparación directa de parámetros bioquímicos y proteómicos entre *C. pseudotuberculosis* y otras especies del género se ve limitada, pero los datos disponibles indican que las diferencias principales se verifican en el formato estructural y en la respuesta a agentes antimicrobianos.

Ácidos micólicos

La envoltura de *C. pseudotuberculosis* es en parte responsable de su resistencia innata a los antibióticos. Debido a su baja permeabilidad e hidrofobicidad, este patógeno tiene la capacidad de evadir fácilmente antibióticos hidrofóbicos. La pared celular de *C. pseudotuberculosis* es muy compleja y se considera uno de sus principales factores de virulencia. La complejidad de esta pared celular se debe principalmente a la presencia de ácido micólico o ácidos corinomicólicos. Estas moléculas corresponden a ácidos grasos 3-hidroxi de cadena larga ramificada, considerados los más cortos dentro de este grupo lipídico, con longitudes de entre veinte y hasta treinta y seis átomos de carbono. En comparación, los ácidos corinomicólicos presentes en micobacterianos pueden alcanzar una longitud de entre sesenta y noventa átomos de carbono. Estas estructuras lipídicas en *C. pseudotuberculosis* desempeñan un papel vital en la supervivencia bacteriana dentro del hospedero. La naturaleza lipídica del ácido micólico es responsable de sus efectos citotóxicos. Se ha reportado que el ácido micólico, tras ser purificado e inoculado en modelos murinos, aumentó los signos clínicos y provocó congestión localizada, edema y necrosis hemorrágica.

Bombas de eflujo

Aunque previamente no se ha reportado la presencia de bombas de eflujo en *C. pseudotuberculosis*; recientemente nuestro grupo de trabajo mediante modelos predictivos, pone en evidencia la existencia de genes de resistencia codificadores de estas bombas. Además, dichos mecanismos se han identificado en otras cepas del género *Corynebacterium*, por lo que es necesario considerar que *C. pseudotuberculosis* emplea bombas de eflujo para la expulsión de antibióticos, siendo esta también una característica común de bacterias formadoras de biopelícula. Las bombas de eflujo disminuyen la concentración intracelular de antibióticos, lo que impide que alcancen su concentración



óptima. Cabe señalar que estos sistemas de transportes son anteriores al uso clínico de antibióticos y se ha demostrado que cumplen funciones vitales en la fisiología, patogenicidad y metabolismo de las bacterias, lo que sugiere que su función principal no es la expulsión de antibióticos. Algunas de estas actividades incluyen: regular los niveles de nutrientes y metales pesados, aliviar el estrés celular y extruir toxinas. Además, las bombas de eflujo pueden exportar sustancias tóxicas en el hospedero, como la bilis, para ayudar a las bacterias a sobrevivir, invadir y colonizar a su hospedero. Entre las bombas de eflujo descritas son: BmrA, NorA y MexAB-OprM que extruyen una variedad de compuestos antibacterianos estructuralmente no relacionados. En contraste, existen bombas específicas, como TetA y CmlA, que confieren resistencia intrínseca a las bacterias frente a antibióticos particulares mediante genes codificados cromosómicamente. Otras, como MefA y MefE, se localizan en transposones, mientras que OqxAB, qax, qepA y tet, pueden encontrarse en plásmidos o integrones. La exposición a antibióticos suele inducir a la sobreexpresión de estas bombas de eflujo o favorecer la aparición de mutaciones, especialmente en los genes reguladores, que les permiten expulsar los antibióticos de manera más eficiente. Cuando las bombas de eflujo se expresan de forma constitutiva, a menudo trabajan junto con otros mecanismos de resistencia, como las β -lactamasas, para aumentar su resistencia a los antibióticos.

β -lactamasas

El gen bla codifica β -lactamasas y es una de las clases más grande de genes de resistencia antimicrobiana. Estas enzimas tienen la capacidad de hidrolizar el anillo betalactámico de los antibióticos, impidiendo así su funcionamiento. Las betalactamasas pueden estar codificadas cromosómicamente o más frecuentemente, en plásmidos o transposones. Rizk y colaboradores en el 2019, detectaron genes de betalactamasa en aislados de *C. pseudotuberculosis* provenientes de Egipto. El cuarenta por ciento de los 26 aislamientos portaban el gen bla; estos aislamientos mostraron alta resistencia a los antibióticos betalactámicos (76,9% a amoxicilina/ácido clavulánico y 53,8% a amoxicilina). Por el contrario, Gallardo y colaboradores en el 2019, no informaron evidencia molecular de genes de betalactamasas, Al realizar un análisis a 15 aislados fueron fenotípicamente susceptibles a los betalactámicos. Aunado a esto, Zavala-Vargas y colaboradores en el 2025 en un análisis *in silico* no lograron predecir genes de betalactamasas en 227 genomas de *C. pseudotuberculosis ovis* reportados en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI).

Por otro lado, Heggendorn y colaboradores en el 2022, identificaron, dos genes relacionados con betalactamasas en *Corynebacterium amycolatum*. Detectando el gen bla, de betalactamasa de clase A, en dos cepas de *Corynebacterium* resistentes a la penicilina mediante reacción en cadena de la polimerasa. Este gen se asocia a mecanismos de resistencia múltiple en un contexto nosocomial. Además, Lavollay y colaboradores en



el 2024, describieron el gen jk0411 en diversas especies *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. amycolatum*, *C. tuberculostearicum* y *C. striatum*. Este gen codifica una proteína denominada Bla Cor, que presenta dominios similares a los de betalactamasas y transpeptidasas, pero que no hidroliza beta-lactámicos. Esta proteína forma parte de un sistema inducible de resistencia en el que se regula la expresión del gen *pbp2c* en cepas resistentes. Estos hallazgos indican que se han encontrado genes de betalactamasa en algunos entornos, pero no en otros, una diferencia que puede deberse al origen geográfico, la variación de la cepa o factores metodológicos.

Enzimas modificadoras de aminoglucósidos

El gen *aph(3'')-Ib* que codifica una aminoglucósido fosfotransferasa y *aadA2* que codifica una aminoglucósido adeniltransferasas. Estos genes tienen la capacidad de conferir resistencia a aminoglucósidos, como gentamicina, kanamicina, estreptomycin, ampicilina y neomicina y actúan inactivando los aminoglucósidos al catalizar modificaciones en los grupos OH o NH₂ de las fracciones de azúcar 2-desoxiestreptamina por fosforilación en el caso del aminoglucósido fosforiltransferasas, acetilación por el aminoglucósido acetiltransferasas o adenilación por el aminoglucósido nucleotidiltransferasas / adeniltransferasa. Los genes que codifican estas enzimas modificadoras tienen el potencial de propagarse entre especies, ya que al igual que las betalactamasas frecuentemente se encuentran rodeadas de elementos genéticos móviles como plásmidos, integrones, transposones, secuencias de inserción, fagos y elementos integrativos y conjugativos. Aunque, no se ha documentado la presencia de genes de enzimas modificadoras de aminoglucósidos Zavala-Vargas y colaboradores, lograron predecir el gen *APH(3')-Ib* en ocho genomas reportados en el NCBI. Además, en un estudio realizado a 64 aislados clínicos de *Corynebacterium striatum* por Navas y colaboradores, reportaron cuatro genes que codifican enzimas modificadas de aminoglucósidos, fosfotransferasas aminoglucósido *aph(3')-Ic*, presente en 26 aislados y asociados con alta resistencia a la kanamicina. También observaron la combinación de los genes *aph(3'')-Ib* y *aph(6)-Id*, hallada en 23 aislamientos con disposición tándem en al menos un caso, ligada a la resistencia a la estreptomycin. Otro gen encontrado fue el de acetiltransferasa aminoglucósido *aac(3)-XI*, detectada en 44 aislamientos y relacionada con resistencia a gentamicina y tobramicina.

Metiltransferasa del ARNr 16s

Las metiltransferasas rRNA 16S (16S-RMTasas), confieren resistencia a los antibióticos aminoglucósidos al modificar el sitio de acción de estos fármacos en el ARNr 16S del ribosoma 30S, que es esencial para la síntesis de proteínas. La resistencia de *C. pseudotuberculosis* a los aminoglucósidos es muy amplia lo que obliga a analizar los



distintos mecanismos que pueden llevar a la resistencia a este grupo de antibióticos. Como uno de los primeros grupos identificados y utilizados clínicamente, los antibióticos aminoglucósidos tienen un amplio espectro antimicrobiano y pueden inhibir tanto las bacterias Gram-negativas como parte de las bacterias Gram-positivas. En *C. pseudotuberculosis* existe una variedad de mecanismos de resistencia que conducen a la resistencia a los aminoglucósidos. Entre los mecanismos, la producción de 16S-RMTasas plantea una amenaza potencial. Ya que pueden conferir resistencia de alto nivel a los aminoglucósidos. Además, varios estudios han demostrado que muchos subtipos de genotipos correspondientes a menudo conducen a niveles más altos de resistencia a los aminoglucósidos, por ejemplo, *rmtF2* puede mediar la resistencia a la amikacina y la arbekacina con MIC > 1024 µg/mL. Y se ha observado que a menudo los genes que codifican las 16S-RMTasas se encuentran en plásmidos transferibles que tienen una amplia gama de hospederos, y que está rodeado por algún tipo de elementos genéticos móviles, incluidos transposones, integrones y secuencias de inserción, promoviendo la transferencia horizontal y regulando positivamente la expresión de los genes de resistencia, lo que resulta en una CMI más alta. Por otro lado, tres investigaciones sobre aislados clínicos de *Corynebacterium* informan sobre genes de resistencia a la ARN metiltransferasa únicamente en especies distintas de *Corynebacterium*. El Damaty y colaboradores, realizaron pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos a 24 aislados, identificados como *C. pseudotuberculosis*, obtenidos de cabras y encontraron que el 73% contenía el gen de resistencia a macrólidos *erm(X)*. Ortiz-Pérez y colaboradores en el 2010 examinaron 254 aislamientos de siete especies, incluidas *C. urealyticum*, *C. amycolatum*, *C. jeikeium*, *C. striatum*, *C. coyleae*, *C. aurimucosum* y *C. afermentans*, detectando el gen de la metilasa del ribosoma de la eritromicina *erm(X)* en 171 aislamientos en total. Además, *erm(B)* apareció en 2 de 120 aislamientos de *C. urealyticum*. El estudio también señaló que 186 de 254 aislamientos presentaron el fenotipo de resistencia a macrólido-lincosamida-estreptogramina B, y 8 de 66 aislamientos de *C. amycolatum* mostraron un fenotipo M de resistencia únicamente a macrólidos. También, González y colaboradores analizaron 93 aislados de *C. amycolatum* y *C. jeikeium* e informaron que el 100% de los aislados resistentes a la eritromicina portaban *erm(X)*. Este estudio también encontró que *erm(X)* en *C. amycolatum* era 100% homólogo al de *C. striatum* y *C. diphtheriae*.

Cloranfenicol acetil transferasa

La resistencia al cloranfenicol se logra mediante O-acetilación, debido a que el fármaco modificado ya no se une al ribosoma bacteriano, en su sitio de acción normal, por lo que el fármaco pierde su efecto como antibiótico. La enzima responsable de esta acetilación es la cloranfenicol acetiltransferasa (CAT) (acetil-CoA:cloranfenicol acetiltransferasa, que cataliza la transferencia de un grupo acetilo del acetil CoA al hidroxilo primario del cloranfenicol. El gen CAT comúnmente, pero no exclusivamente, se transmite por



plásmidos en aislados naturales es un componente de los plásmidos que confieren resistencia a múltiples fármacos, especialmente en bacterias Gram negativas y *Enterobacteriaceae*. El Damaty y colaboradores, informaron que, en 24 aislados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de ovejas, el 83% presenta el gen *cat1*. De la misma manera Zavala-Vargas y colaboradores pudieron predecir la presencia del gen *catB2* en 227 genomas de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, reportados en la plataforma NCBI. Aunque, es un tema poco estudiado, la presencia de genes codificadores de la enzima cloranfenicol acetil transferasa está documentada en *C. pseudotuberculosis* y es un punto para considerar en la elección de antibióticos para su tratamiento.

Mutación del gen *rpoB*

La rifampicina (RIF) es uno de los fármacos antituberculosos más importantes. Su actividad bactericida altamente eficaz contra *Mycobacterium tuberculosis* la ha convertido en un fármaco principal en el tratamiento de la tuberculosis. En relación con *C. pseudotuberculosis* la rifampicina es un fármaco reportado al menos por dos autores con resistencia. Además, la identificación de los aislados de *C. pseudotuberculosis ovis* se realiza mediante la amplificación múltiple de fragmentos de cuatro genes específicos 16S rRNA, *rpoB*, *pld* y *narG*. Siendo el gen *rpoB* el que presenta la mutación que confiere dicha resistencia. La RIF se dirige a la subunidad β de la ARN polimerasa dependiente de ADN, codificada por el gen *rpoB*. La *rpoB* mutada produce un cambio conformacional relevante para la afinidad de unión de RIF en la subunidad β de la ARN polimerasa (RNAP) y, en consecuencia, el fármaco se vuelve inactivo sin la unión adecuada al sitio diana. Se ha demostrado que aproximadamente el 90-95% de los aislados resistentes a RIF albergan mutaciones en el gen *rpoB*, y la resistencia a RIF está asociada en gran medida a mutaciones en un fragmento de 81 pb del gen *rpoB*, que se encuentra entre los codones *rpoB* 426 y 452 en *M. tuberculosis*. Sin embargo, el mecanismo de resistencia en relación con el 5% restante de aislamientos resistentes a RIF aún se desconoce, lo que indica que podría haber otros mecanismos, como una menor permeabilidad de la pared celular o una mayor bomba de eflujo.

En el estudio realizado por Markova y colaboradores se observó una identidad y cobertura relativamente bajas en aislados analizados de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, con secuencias de referencia en las bases de datos del gen *rpoB* que codifica la subunidad β de la ARN polimerasa dependiente de ADN. En estos aislados no se observó resistencia antibacteriana a rifampicina, lo que indica que no hay una mutación que conduzca a la resistencia a la rifampicina. Por el contrario, en el análisis realizado por Abdulrahman, en aislados de *C. pseudotuberculosis* se reportó resistencia fenotípica a rifampicina en dos aislados. De la misma manera en el análisis *in silico* realizado a 227 genomas de *C. pseudotuberculosis* por Zavala-Vargas se observó la mutación en el gen



rpoB (D516G, H526T, L511R) reportada en *Mycobacterium gordonae* y descrita como de resistencia a rifampicina.

Conclusiones

Un punto importante a tener en cuenta para el análisis genómico de resistencia antibacteriana es que se ha observado por medio de análisis filogenómicos, pangenómicos, genómicos centrales y de singletons, relaciones estrechas entre las corinebacterias patógenas, el comportamiento de tipo clonal de *C. pseudotuberculosis*; esto conlleva a aumentos lentos en los tamaños de los pangenomas.

Por medio de extrapolaciones basadas en los pangenomas, genomas centrales y singletons, se ha observado que el biovar *ovis* de *C. pseudotuberculosis* muestra un comportamiento más de tipo clonal que el biovar *equi*. La mayor parte de los genes variables en las cepas del biovar *ovis* fueron adquiridos en conjunto a través de transferencia horizontal de genes y muestran un alto grado de conservación. Por esto, pudiera esperarse una baja cantidad de genes de resistencia antibacteriana facilitando su tratamiento. Por el contrario, se ha observado que este patógeno desarrolla resistencia a la mayoría de los antibióticos a los que está expuesto, lo que puede deberse a una gran cantidad de genes de resistencia mal caracterizados y/o que no se han considerado como tales.

La resistencia antibacteriana de *C. pseudotuberculosis* está compuesta de una serie de factores tanto genómicos como bioquímicos, debido a que por sí sola esta bacteria conlleva una serie de características intrínsecas que genera protección contra agentes antimicrobianos, y que no han sido analizadas a profundidad, debido a que no se consideran directamente un mecanismo de resistencia antimicrobiana. Una de estas, es el tipo de lesiones generadas por *C. pseudotuberculosis*, debido a la capacidad que presentan para impedir el paso del antibiótico por las diferentes capas de tejido conectivo características de las lesiones en nódulos linfoides y órganos primarios. También, es necesario considerar la capa de ácidos micólicos hidrofóbicos que recubren su característica membrana, impidiendo el acceso de antibióticos hidrofóbicos. Aunado a sus características bioquímicas *C. pseudotuberculosis* cuenta con diferentes genes que codifican mecanismos de resistencia antibacteriana, que nos obligan a realizar un análisis profundo para lograr optimizar el esquema de tratamiento contra este patógeno. Por lo tanto, para la implementación de una metodología que optimice el tratamiento farmacológico se debe tener en consideración una serie de parámetros que ayuden a valorar los constantes reportes bibliográficos de resistencia antibacteriana que surgen a nivel mundial. Recientemente la implementación de redes neuronales en el campo de la bioquímica ha contribuido al campo de la proteómica estructural para resolver plegamientos de complejos proteicos con una alta fiabilidad. Probablemente, la inteligencia artificial y las redes neuronales sean el camino más certero para la



optimización de esquemas de tratamiento contra patógenos multirresistentes. Finalmente, el aumento de información sobre los patrones de resistencia de *C. pseudotuberculosis* dan pie a una mejor comprensión de este problema presente en las diferentes zonas ganaderas, coadyuva a generar un mejor tratamiento contra este patógeno.

Bibliografía

- Abd El Tawab, A. A., Rizk, A. M., Afifi, S. E., and Mohamed, S. R. (2019). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in small ruminants and molecular study of virulence and resistance genes in Beni-Suef governorate. *Benha Veterinary Medical Journal*, 37(1), 122–127.
- Abdulrahman, R. F. (2021). Virulence potential, antimicrobial susceptibility and phylogenetic analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from caseous lymphadenitis in sheep and goats in Duhok City, Iraq. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 9(6), 919–925. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2021/9.6.919.925>
- Abebe, D., and Tessema, T. S. (2015). Determination of the prevalence of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and the antimicrobial susceptibility pattern of isolates from lymph nodes of sheep and goats at an organic export abattoir, Modjo, Ethiopia. *Letters in Applied Microbiology*, 61(5), 469–476. <https://doi.org/10.1111/lam.12482>
- Aínsa, J. A., Pérez, E., Pelicic, V., Berthet, F. X., Gicquel, B., and Martín, C. (1997). Aminoglycoside 2'-N-acetyltransferase genes are universally present in mycobacteria: Characterization of the *aac(2')*-Ic gene from *Mycobacterium tuberculosis* and the *aac(2')*-Id gene from *Mycobacterium smegmatis*. *Molecular Microbiology*, 24(3), 431–441. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.3601716.x>
- Ambler, R. P. (1980). The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
- Balducci, E., Papi, F., Capiabbi, D. E., and Del Bino, L. (2023). Polysaccharides' structures and functions in biofilm architecture of antimicrobial-resistant (AMR) pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 4030. <https://doi.org/10.3390/ijms24044030>
- Bhardwaj, A. K., and Mohanty, P. (2012). Bacterial efflux pumps involved in multidrug resistance and their inhibitors: Rejuvenating the antimicrobial chemotherapy. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 7(1), 73–89. <https://doi.org/10.2174/157489112799829710>



- De Sá, M. C. A., Da Silva, W. M., Rodrigues, C. C. S., Rezende, C. P., Marchioro, S. B., Filho, J. T. R. R., De Jesus Sousa, T., De Oliveira, H. P., Da Costa, M. M., Figueiredo, H. C. P., Portela, R. D., De Paula Castro, T. L., Azevedo, V., Seyffert, N., and Meyer, R. (2021). Comparative Proteomic Analyses Between Biofilm-Forming and Non-biofilm-Forming Strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis* Isolated From Goats. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.614011>
- El Damaty, H. M., El-Demerdash, A. S., Abd El-Aziz, N. K., Yousef, S. G., Hefny, A. A., Abo Remela, E. M., Shaker, A., and Elsohaby, I. (2023). Molecular characterization and antimicrobial susceptibilities of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from caseous lymphadenitis of smallholder sheep and goats. *Animals*, 13(14), 2337. <https://doi.org/10.3390/ani13142337>
- Flemming, H. C., Neu, T. R., and Wozniak, D. J. (2007). The EPS matrix: The “house” of biofilm cells. *Journal of Bacteriology*, 189(22), 7945–7947. <https://doi.org/10.1128/JB.00858-07>
- Gallardo, A. A., Toledo, R. A., González Pasayo, R. A., Azevedo, V., Robles, C., Paolicchi, F. A., and Estevo Belchior, S. G. (2019). *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis*: Evaluación de la sensibilidad antibiótica in vitro. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(2), 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.12.001>
- Leslie, A. G., Moody, P. C., and Shaw, W. V. (1988). Structure of chloramphenicol acetyltransferase at 1.75-Å resolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(12), 4133–4137. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.12.4133>
- Li, H., Yang, H., Zhou, H., Li, Z., Yi, X., Xu, W., Wang, Y., and Hu, Z. (2018). Isolation, antibiotic resistance, virulence traits, and phylogenetic analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from goats in southwestern China. *Small Ruminant Research*, 168, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.09.015>
- Markova, J., Langova, D., Babak, V., and Kostovova, I. (2024). Ovine and caprine strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis* on Czech farms: A comparative study. *Microorganisms*, 12(5), 875. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12050875>
- Odhah, M. N., Jesse, F. F. A., Bura, P., Chung, E. L. T., Mohamad Nor, N. F., Norsidin, J. M., Garba, B., and Mohd-Lila, M.-A. (2022). Current review on mycolic acid immunogen of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 12(2), 177–186.
- Tada, T., Shimada, K., Mya, S., Zan, K. N., Kuwahara, K., Kirikae, T., and Tin, H. H. (2018). A new variant of 16S rRNA methylase, RmtD₃, in a clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa* in Myanmar. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(1), e01806-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01806-17>



- Torky, H. A., Saad, H. M., Khaliel, S. A., Kassih, A. T., Sabatier, J. M., Batiha, G. E. S., Hetta, H. F., Elghazaly, E. M., and De Waard, M. (2023). Isolation and molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis*: Association with proinflammatory cytokines in caseous lymphadenitis pyogranulomas. *Animals*, 13(2), 296. <https://doi.org/10.3390/ani13020296>
- Yeshitila, G., Gocmen, H., Tamakan, Y., and Hazel, H. (2023). Determination of antibiotic resistance pattern and molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from lymph node samples of sheep and goats in Ethiopia. *Pakistan Journal of Zoology*, 55(1), 1–7. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2023.55.1.1.7>
- Zhang, G., Zhang, L., Sha, Y., Chen, Q., Lin, N., Zhao, J., Zhang, Y., Ji, Y., Jiang, W., Zhang, X., Li, Q., Lu, J., Lin, X., Li, K., Zhang, H., Bao, Q., Lu, J., Hu, Y., and Zhu, T. (2023). Identification and characterization of a novel 6'-N-aminoglycoside acetyltransferase AAC(6')-Va from a clinical isolate of *Aeromonas hydrophila*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1229593. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1229593>