



Emergencia de *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta productoras de carbapenemasas en Perú

Diana Flores-León ^(1,2), Juan Ramírez-Illescas ⁽¹⁾, Willi Quino ⁽¹⁾, Kevin Serrano-Segura ⁽¹⁾, Eva Huamani-Benitez⁽¹⁾, Junior Caro-Castro ⁽¹⁾, Ronnie G. Gavilán ^(1, 2)

(1) Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú, (2) Universidad Privada San Juan Bautista.

Introducción

Klebsiella pneumoniae hipervirulenta (hvKp) es un patotipo emergente que presenta mayor virulencia que la *K. pneumoniae* clásica (cKp). Tiene la capacidad de causar infecciones graves y potencialmente fatales en individuos previamente sanos, a menudo en entornos comunitarios. La hvKp se informó por primera vez en 1986 en Taiwán, y causó neumonía complicada con absceso hepático, meningitis y endoftalmitis (Struve et al., 2015). La hvKp se asocia a la hipermucoviscosidad, la cual puede ser evidenciada mediante el “string test”, considerándose positivo cuando al tocar la colonia con un asa de cultivo se logra generar una cuerda viscosa que se extiende desde la superficie del agar por 5 mm o más (Lopez et al., 2020). Sin embargo, la confirmación de las cepas hvKp requieren una confirmación genética, determinada por diversos factores de virulencia relacionados a la producción de capsula e hipermucoviscosidad (*rpmA* y *rmpA2*), producción de sideróforos como la aerobactina (*iuc*), la salmoquelina (*iro*) y la yersiniabactina (*ybt*), la síntesis de la toxina colibactina (*clb*) o la presencia del transportador de origen plasmídico *peg-344* (Russo y Marr, 2019). En Sudamérica, la circulación de cepas hvKp se ha dado previamente en países como Chile, Ecuador y Colombia. Debido a ello, el objetivo de este estudio fue secuenciar un conjunto de cepas de *K. pneumoniae* con fenotipo hipermucoviscoso recuperadas entre los años 2022-2024, para determinar si poseen características genéticas relacionadas a hipervirulencia en Perú.

Metodología

DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN: El estudio evaluó 554 cepas peruanas de *K. pneumoniae* resistentes a los carbapenémicos recibidas por el Laboratorio de Bacteriología Clínica (LRN-BACLI) del Instituto Nacional de Salud (INS) durante los años 2022-2024.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE *K. pneumoniae*: Las cepas fueron sembradas en Agar Tripticasa soya (TSA) y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. La especie *K. pneumoniae* fue confirmada empleando un analizador MALDI-Biotyper, siguiendo los protocolos del fabricante. Además, se empleo el “string test” como prueba presuntiva de fenotipo hipervirulento, seleccionando 21 cepas positivas a este método para ser secuenciadas.

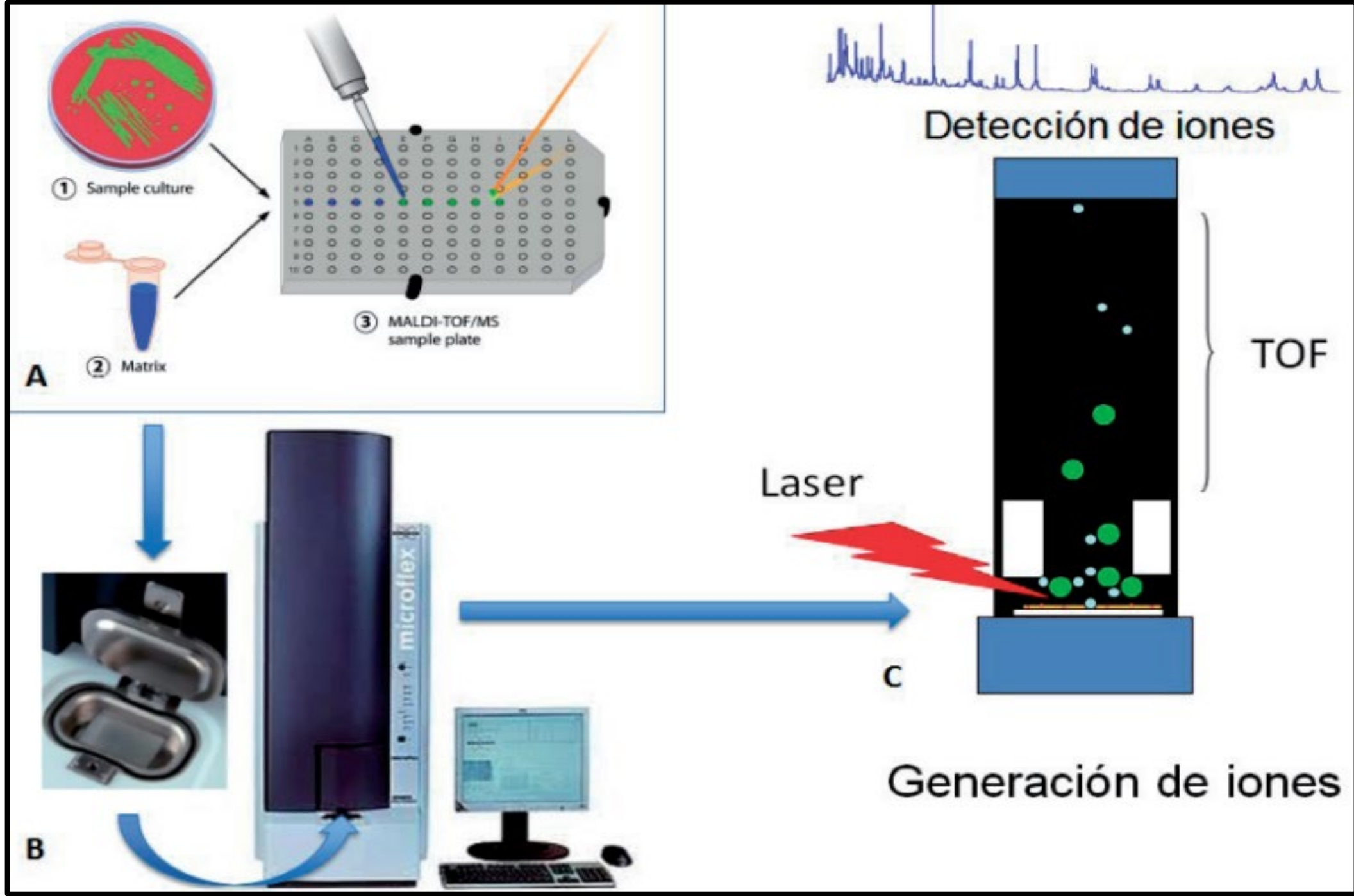


Figura 1. Esquema de análisis y caracterización de *K. pneumoniae* mediante MALDI-TOF

PREPARACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE BIBLIOTECAS: La extracción del ADN genómico se realizó con el kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Alemania). La concentración del ADN se cuantificó en un fluorómetro Qubit 3.0 (Invitrogen, Malasia). Las bibliotecas se realizaron con el kit de preparación Nextera XT y la secuenciación genómica con un secuenciador MiSeq (Illumina, EE. UU.).

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO: La calidad de las secuencias se evaluó mediante FastQC. Las secuencias se ensamblaron *de novo* utilizando A5-miseq. Los genotipos se asignaron mediante MLST. La inferencia filogenética se realizó a partir del genoma core empleando RaxML (Stamatakis, 2014), incluyendo genomas obtenidos en Argentina, Colombia, Chile, Ecuador y otros pertenecientes a la vigilancia genómica del LRN-BACLI. Además se incluyó genomas de Irlanda como grupo externo.

DETECCION DE GENES DE VIRULENCIA Y RESISTENCIA: Los genes de virulencia se identificaron a partir de la base de datos VFDB (esquema de Russo y Kleborate), mientras que los genes de resistencia antimicrobiana se identificaron a partir de la base de datos ResFinder, ambos con una identidad >90 % y cobertura de alineamiento >60 %. La información se asoció a la filogenia previamente obtenida.

Tabla 1. Genotipos de las cepas de *K. pneumoniae* hipervirulentas de Latinoamérica determinados por MLST y su asociación con los genes de carbapenemasas

Genotipos hvKP (MLST)	País	Nro de cepas	Genes de carpanemasas asociados
ST-5	Ecuador	1	KPC-2
ST-23	Perú	1	NDM-1
	Chile	3	KPC-2
ST-268	Perú	1	NDM-1
ST-380	Colombia	1	KPC-2
	Chile	1	-

Resultados y discusión

GENOTIPOS HIPERVIRULENTOS DE *K. pneumoniae*: Aunque se detectaron 29 ST diferentes para los genomas de origen sudamericano, solo se detectó la presencia de 4 ST con genotipo hipervirulento según el esquema de Russo y Marr (genes *iucA*, *iroB*, *peg-344*, *rpmA* y *rmpA2*), siendo las cepas peruanas nuevos reportes para la región: ST-5 circulante en Ecuador, ST-23 en Chile y Perú, ST-268 en Perú y ST-380 en Chile y Colombia. Por otro lado, según el esquema de Kleborate, solo el ST-23 presentó a los tres genes de los sideróforos aerobactina, yersibactina y colibactina (Tabla 1, Figura 1).

FILOGENIA DE *K. pneumoniae* HIPERVIRULENTA: La cepa hvKp peruana del ST-23 tuvo una mayor proximidad filogenética con las cepas del mismo ST procedentes de Irlanda que las procedentes de Chile. Por otro lado la cepa hvKp peruana del ST-268 tuvo una mayor proximidad a las cepas del ST-36 procedente de Irlanda, aunque este último genotipo no ha sido caracterizado como hipervirulento (Figura 1).

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE hvKp: Aunque todas las cepas de *K. pneumoniae* incluidas en el análisis presentaron genes que codifican para betalactamasas de espectro extendido (BLEE), se destaca la presencia de genes que codifican carbapenemasas en las cepas hipervirulentas. Las cepas hvKp de Ecuador, Chile y Colombia presentaron el gen KPC-2, mientras que las dos cepas hvKp de origen peruano presentaron el gen NDM-1 (Tabla 1, Figura 1).

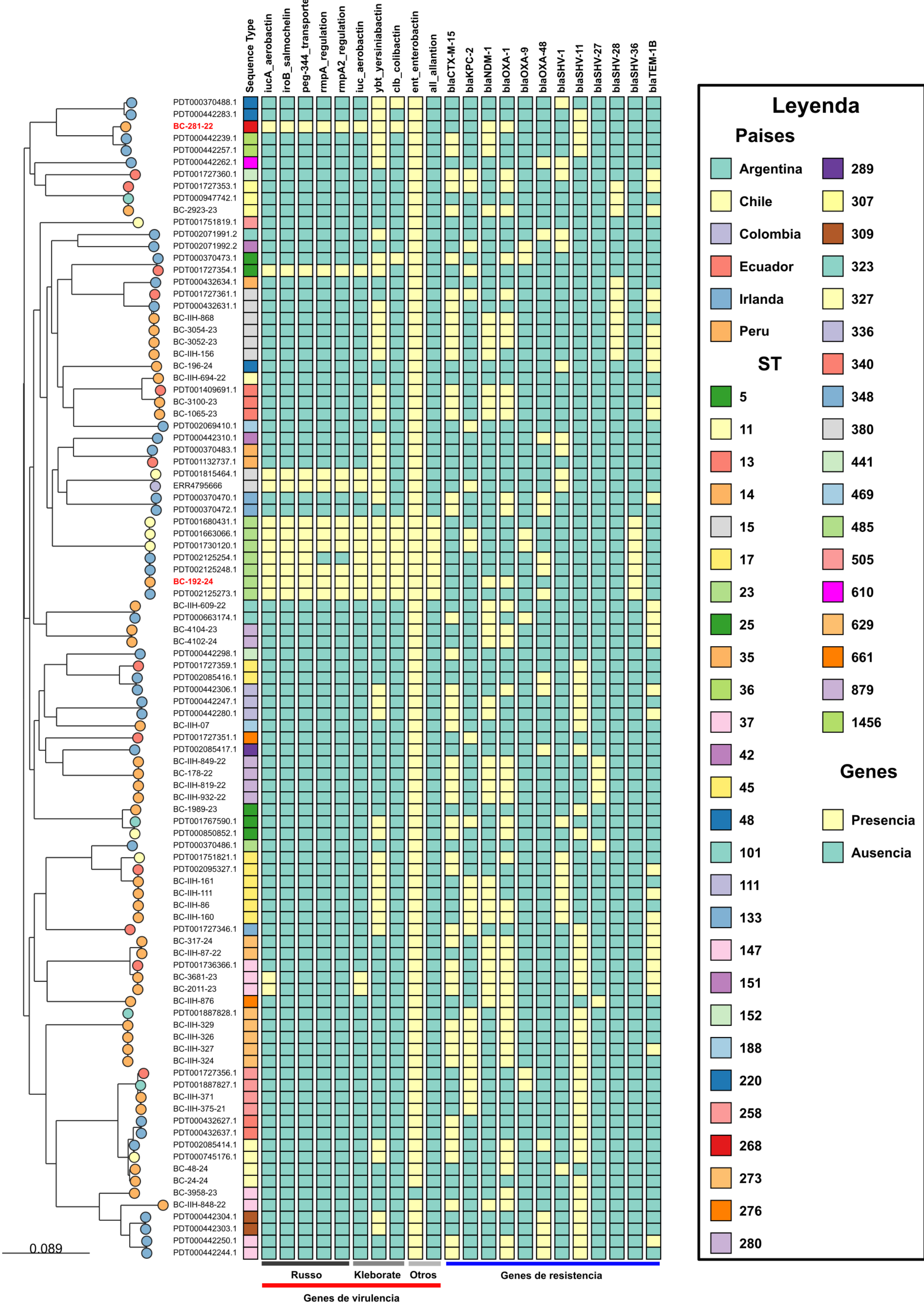


Figura 2. Filogenia de cepas de *K. pneumoniae* recuperados en Perú y Sudamérica. El color de los nodos indica el país de donde fueron aisladas las cepas, la primera fila de bloques representa el secuenciotipo (ST) mediante colores diferentes, mientras que los bloques restantes indican la presencia/ausencia de genes de resistencia, según la leyenda. Las cepas hvKp peruanas se resaltan en color rojo.

Conclusiones

- Se reporta la presencia de dos genotipos de *K. pneumoniae* hipervirulentos (hvKp) circulantes en Peru: ST-268 desde el 2022 y ST-23 desde el 2024.
- A nivel de Sudamérica, el ST-23 circula tanto en Perú como en Chile, mientras que el ST-268 parece circular únicamente en Perú.
- Las cepas hvKp peruanas presentaron genes de resistencia que codifican para diversas BLEE y carbapenemasas como la NDM-1.
- Se resalta la importancia de continuar con el monitoreo genómico de *K. pneumoniae* empleando secuenciación de genoma completo para la detección de otras cepas hipervirulentas circulantes en el país.

Referencias

1. Struve C, et al. (2015). Mapping the Evolution of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *mBio*, 6(4), e00630

2. López S, et al. (2020). *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta. *Revista chilena de infectología*. 37(6): 739-740.

3. Russo TA, Marr CM (2019). Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev* 32:10.1128/cmr.00001-19.

4. Stamatakis A. 2014. RAXML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* (9), vol 30, 1312–1313.