CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DEL CONTENIDO PLASMÍDICO DE UNA CEPA CLÍNICA DE *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta

COGO, Catalina [1]; MORALES FLORES, Ailen M [1]; MARTÍNEZ, Cecilia [2]; DAVID, Valeria [2]; RINAUDO, Mariángel [2]; MARCHIARO, Patricia [1]; MORÁN BARRIO, Jorgelina [1].

[1]*Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET-UNR),* [2] Área Bacteriología, FCByF, UNR.

Palabras claves: plásmido; Klebsiella pneumoniae hipervirulenta; ISKpn74; ensamblado genómico

moran@ibr-conicet.gov.ar

INTRODUCCIÓN

Klebsiella pneumoniae hipervirulenta (*Kp*hv) es un patotipo emergente caracterizado por su elevada morbilidad y mortalidad[1,2]. Clínicamente se asocia con abscesos hepáticos y con la capacidad de producir diseminación metastásica en infecciones adquiridas en la comunidad, dando lugar a complicaciones como endoftalmitis y meningitis. A pesar de su relevancia a nivel mundial, es poco frecuente en Argentina[3]. Los serotipos capsulares asociados son principalmente K1 y K2, siendo los secuenciotipos (ST) prevalentes para K1, ST23, y para K2, ST65, ST375 y ST86. Típicamente, las *Kp*hv poseen plásmidos grandes que contienen genes asociados a la virulencia, como los involucrados en el fenotipo mucoide (*rmpA, rmpA2*) y en la síntesis de los sideróforos aerobactina (*iuc*) y salmoquelina (*iro*). Otros genes adquiridos, como los genes de resistencia al telurito (*ter*), cuya presencia se evidencia mediante un TEL^R positivo (Fig. 1.B), y el transportador de membrana (*peg-344*), también pueden estar asociados con *Kp*hv. La hipermucoviscosidad (HMV), determinada mediante la prueba de filancia (Fig. 1.A), junto con un amplio perfil de sensibilidad a los antimicrobianos, son características fenotípicas asociadas a *Kp*hv; sin embargo, la detección de los genes de virulencia es esencial para confirmar este patotipo[1].

En 2022, se aisló en nuestra región una cepa clínica de *Kp*hv (*Kp*hv 71099) con fenotipo HMV[4]. Esta cepa pertenece al secuenciotipo ST375 y al serotipo capsular K2. Mediante PCR se detectaron los genes de virulencia *rmpA*, *rmpA2, iucA* e *iroB,* mientras que *peg-344* y los genes *ter* no fueron detectados.

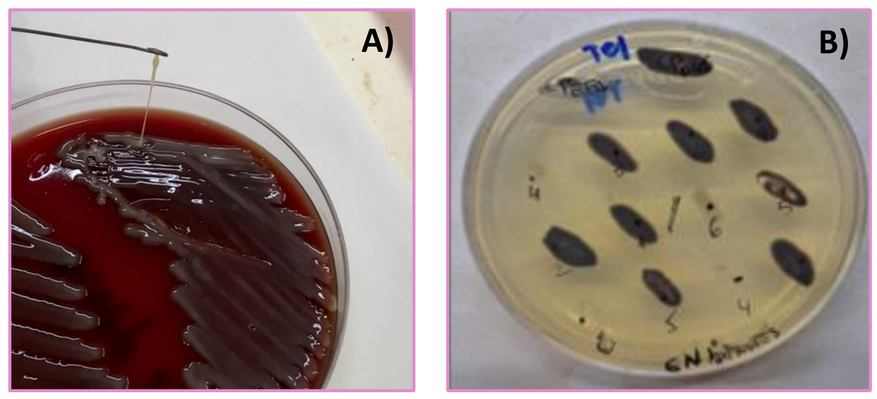


Figura 1. A) Prueba de filancia positiva (hilo ≥ 5 mm). **B)** Resistencia a telurito **(TEL^R) prueba positiva** (colonias negras).

En este trabajo, utilizamos la secuenciación del genoma completo y análisis bioinformáticos para caracterizar el contexto genético y la localización genómica de genes asociados a la virulencia en *Kp*hv 71099

RESULTADOS

1) El análisis genómico reveló la presencia de un plásmido de virulencia

- Se identificaron tres plásmidos:
  - **p71099_195**, plásmido de 195,246 pb, contiene genes asociados a la virulencia (Fig. 2, genes coloreados en rosa).
  - Dos plásmidos adicionales de 2,374 y 4,686 pb que comparten homología con otros plásmidos de *Kp*hv y no poseen características relevantes.

2) El análisis comparativo de la secuencia de p71099_195 con plásmidos de *Kp*hv disponibles en bases de datos reveló una alta homología

- p71099_195 comparte homología con distintos plásmidos de virulencia no conjugativos (Tabla 1).
- pK2044 y pLVPK fueron seleccionados para el análisis comparativo como estructuras de referencia para este grupo de plásmidos[1].

Tabla 1. Homología de secuencia de p71099_195 con plásmidos de *Kp*hv de bases de datos NCBI (National Center for Biotechnology Information)

Cepas hv*Kp*	Plásmidos de virulencia[a]	Número de acceso (NCBI)	Estadísticas del alineamiento (BLASTn)	
			Query cover (%)	%Id
NTUH-K2044	pK2044 [b]	NC_006625.1	83	97,00
CG43	pLVPK [b]	NC_005249.1	84	99,92
LAhv*Kp*230	pLAhv*Kp*230-1	NZ_CP176962.1	82	99,95
KCTC 2242	pKCTC2242	CP002911.1	95	99,94
KPNSP-1	pn-1	CP065402.1	94	99,98
Ecl8	pEcl8	CP073077.1	94	99,98

[a]Secuencias con los mejores valores estadísticos obtenidos en la búsqueda de homología
[b]Plásmidos de virulencia de referencia

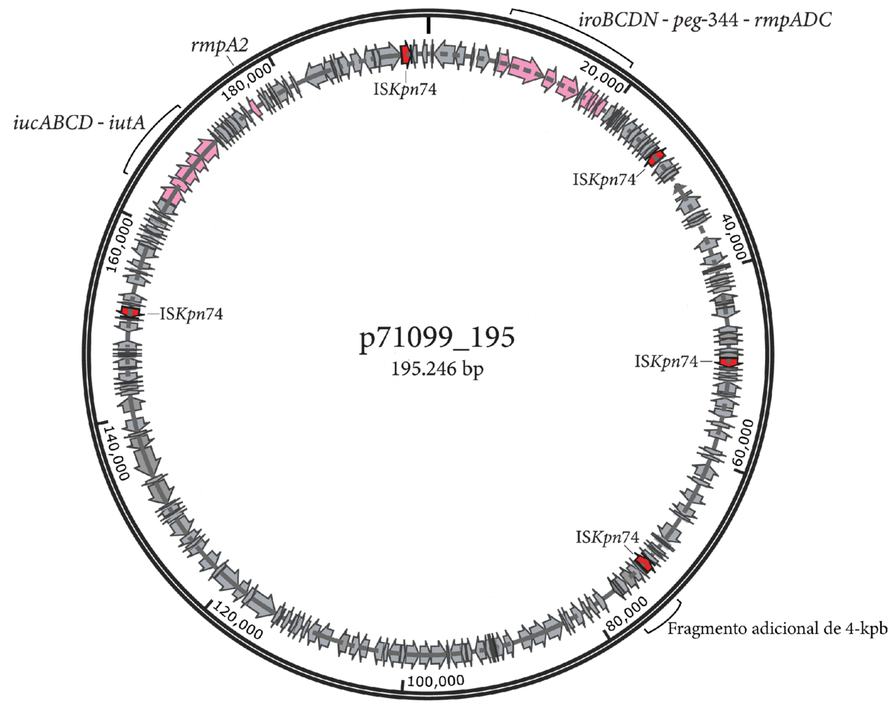


Figura 2. Mapa genético del plásmido de virulencia p71099_195. Las características relevantes se indican con colores: genes asociados a virulencia (rosa), secuencia de inserción IS*Kpn*74 (rojo), fragmento de ADN de 4-kpb (corchete).

3) Análisis de la secuencia revelaron reordenamientos estructurales en p71099_195

- La comparación lineal de p71099_195 con plásmidos de referencia mediante Mauve reveló seis regiones homólogas con diferentes organizaciones. Esta evidencia indica una reorganización estructural en p71099_195 (Fig. 3).

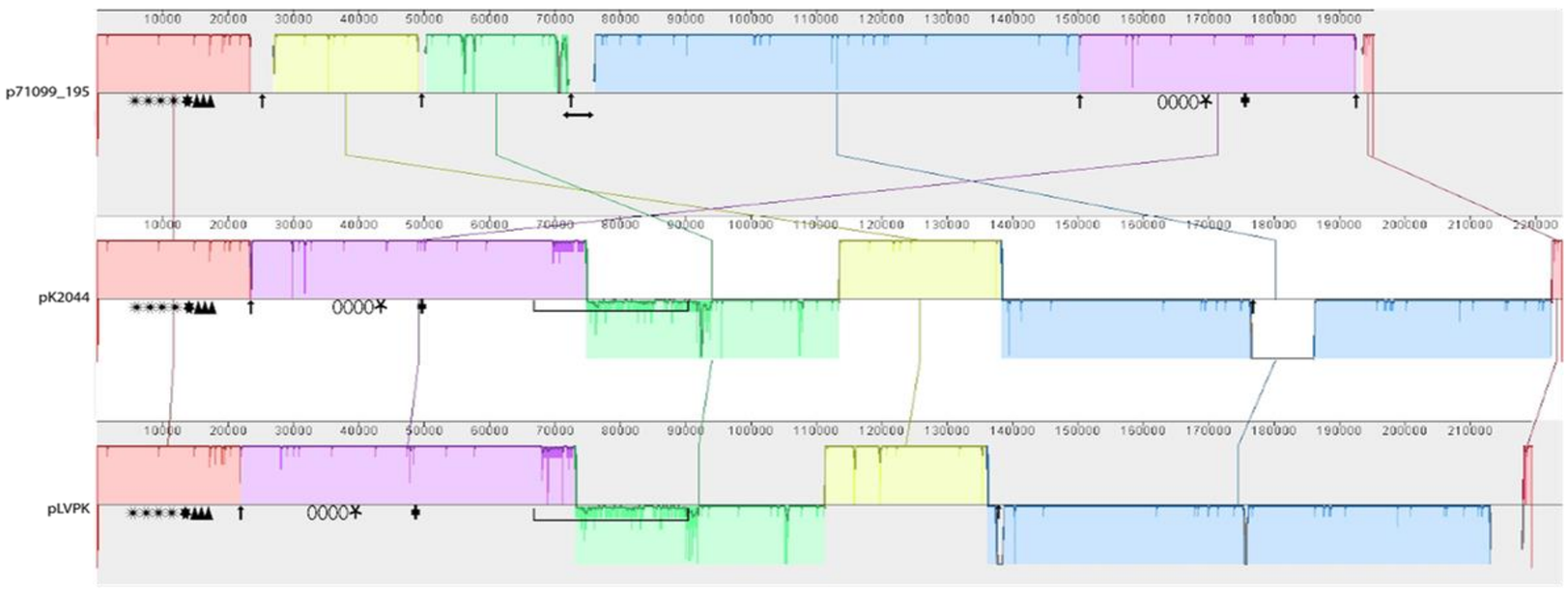


Figura 3. Comparación de la secuencia de p71099_195 con los plásmidos de referencia utilizando Mauve. Cada color representa una región homóloga ente los plásmidos. Los símbolos de referencia corresponden a: *iroBCDN* *peg*-344 *rmpADC* IS*Kpn74* *iucABCD* *iutA* *rmpA2* IS*Kpn74* - IS*1* 25-kbp ausentes

Diferencias estructurales identificadas en p71099_195:

- **IS*Kpn74***: Cinco copias de p71099_195 (Fig. 2, indicadas en rojo) vs. dos en pK2044 y pLVPK. La IS*Kpn*74 esta localizada entre las regiones reordenadas (Fig. 3, indicado con ⬆).
- **Ausencia de 25-kpb:** Incluye: i) los genes de resistencia a telurito (*terABCDE),* consistente con el resultado negativo en la prueba TEL^R; ii) El sistema de toxina-antitoxina de tipo II HicB; iii) Otros genes sin función conocida en la virulencia (Fig. 3, indicado con ⌴ en los plásmidos de virulencia de referencia).
- **Fragmento adicional de 4-kpb:** Región bordeada por IS*Kpn*74 y IS1 presente únicamente en p71099_195 (Fig. 4, indicado con ⟷).

CONCLUSIONES

- Este trabajo presenta una caracterización genómica detallada de la cepa emergente *Kp*hv ST375/K2 (*Kp*hv 71099), aislada en nuestra región.
- Los principales determinantes de virulencia se encuentran en un plásmido no conjugativo de 195.246 pb (p71099_195) que presenta una alta homología con los plásmidos de virulencia pK2044 y pLVPK, considerados de referencia.
- Diferencias estructurales se observaron en p71099_195:
  - Expansión de copias de ISKpn74 en regiones de unión del ADN, asociada a reordenamientos estructurales del plásmido.
  - Pérdida de una región de 25 kpb que incluye los genes de resistencia al telurito, y la incorporacion de un fragmento único de 4 kpb flanqueado por IS*Kpn*74 e IS1, lo que evidencia la plasticidad evolutiva de este plásmido de virulencia.

Estos hallazgos resaltan la necesidad crítica de realizar vigilancia genómica para monitorear la identificación, evolución y diseminación de plásmidos de virulencia de *Kp*hv en América del Sur.

REFERENCIAS

1. Russo TA, Marr CM. 2019. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Clin Microbiol Rev 32:e00001-19. https://doi.org/10.1128/CMR.00001-19.
2. Al Ismail D, et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hv*Kp*): Overview, Epidemiology, and Laboratory Detection. Pathogens and Immunity. 2025;10(1):80–119. doi:10.20411/pai.v10i1.777.
3. Nannini EC, et al. Rev Argent Microbiol. 2025;57(4):356–363. doi:10.1016/j.ram.2024.11.006.
4. Martínez C, et al. Actualizaciones en Sida e Infectología. 2025;33(117). doi:10.52226/revista.v33i117.344.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por subsidios de CONICET, ANPCyT, PEIC I+D (Santa Fe) y UNR otorgados a JMB.