



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

COEXISTENCIA DE HIPERVIRULENCIA Y RESISTENCIA A
CARBAPENÉMICOS EN AISLADOS CLÍNICOS DE *Klebsiella pneumoniae*
EN SUDAMÉRICA: UN ANÁLISIS GENÓMICO COMPARATIVO.

COEXISTENCE OF HYPERVIRULENCE AND CARBAPENEM-
RESISTANCE IN CLINICAL ISOLATES OF *Klebsiella pneumoniae* IN
SOUTH AMERICA: A COMPARATIVE GENOMIC ANALYSIS.

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
CIRUJANO

AUTOR

JEAN PATRICK BUTEAU TAPIA

ASESORA

FIGURELLA DEL CARMEN KRAPP LOPEZ

LIMA - PERÚ

2024

JURADO

Presidente: Dra. Coralith Marlinda Garcia Apac
Vocal: Dr. Jesus Humberto Tamariz Ortiz
Secretario: Dr. Fernando Alonso Mejia Cordero

Fecha de sustentación: 22 de febrero del 2024

Calificación: Aprobado con Honores

ASESORES DE TRABJO DE TESIS

ASESORA

Dra. Fiorella Del Carmen Krapp Lopez

Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt

ORCID: 0000-0002-8404-2827

DEDICATORIA

A mis queridos padres y abuela, a mi tío y a mis amigos, así como a mi mentora: su apoyo incondicional ha sido un pilar en mi vida. Sin su presencia, guía y aliento constante nada de esto hubiera sido posible. Dedico este trabajo a cada uno de ustedes, que han sido parte esencial en la realización de este sueño.

AGRADECIMIENTOS

Extiendo mi más sincero agradecimiento a la Dra. Fiorella Krapp, cuya paciencia y sabiduría han sido un faro en mi camino académico. Su habilidad para guiar con empatía, paciencia y constancia ha marcado profundamente mi crecimiento personal y profesional. Más que una mentora, ha sido una fuente inagotable de inspiración y un ejemplo por seguir.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El presente proyecto de investigación fue autofinanciado.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

El autor de este proyecto de investigación declara no tener ningún conflicto de interés.

COEXISTENCIA DE HIPERVIRULENCIA Y RESISTENCIA A CARBAPENÉMICOS EN AISLADOS CLÍNICOS DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE EN SUDAMÉRICA: UN ANÁLISIS GENÓMICO COMPARATIVO

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1 %
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1 %
3	Nirvia Margot Cuaical-Ramos, Marynes Montiel, Daniel Marcano Zamora. "Genetic variability of carbapenemase KPC-producing Klebsiella pneumoniae isolated at different states in Venezuela", Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.), 2019 Publicación	<1 %
4	search.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
5	Eduardo Andrés Tuta-Quintero, Valentina Suárez-Ramírez, Juan Pimentel. "Eficacia y seguridad de la medicina tradicional china en	<1 %

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 MARCO TEÓRICO.....	1
1.2 <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> RESISTENTE A CARBAPENÉMICOS (KPRC)	1
1.3 EL SURGIMIENTO DE <i>K. PNEUMONIAE</i> HIPERVIRULENTO (KPHV)	2
1.4 DEFINICIÓN KPHV	7
1.5 EPIDEMIOLOGÍA GLOBAL.....	7
1.5 EMERGENCIA DE CEPAS CON SUPERPOSICIÓN DE FENOTIPO RESISTENTE E HIPERVIRULENTO.....	9
2. JUSTIFICACIÓN:	11
3. OBJETIVOS	12
4. MATERIALES Y MÉTODOS	13
5. RESULTADOS	22
6. DISCUSIÓN	26
7. LIMITACIONES	29
8. CONCLUSIONES	31
9. RECOMENDACIONES	32
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
11. APÉNDICE	50
12. ANEXOS	58

Resumen

Antecedentes: *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta es capaz de producir infecciones invasivas en pacientes sanos e inmunosuprimidos. La superposición de este fenotipo con el fenotipo de resistencia a carbapenémicos es de especial importancia y es sujeto de vigilancia epidemiológica y genómica en el este asiático, Europa y América del Norte. Sin embargo, esta vigilancia es escasa en países de bajos y medianos recursos y no existe información a nivel de Sudamérica.

Objetivos: Identificar biomarcadores genéticos de hipervirulencia y otros determinantes de virulencia en genomas completos de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas de Sudamérica, así como sus características clínicas-epidemiológicas, y evaluar la asociación entre la presencia de determinantes de virulencia y sitio de infección y mortalidad.

Métodos: Se realizó una búsqueda sistematizada de las secuencias a partir de estudios originales y en la base de genomas del NCBI. Las secuencias fueron analizadas con la herramienta Kleborate y la metadata fue analizada con R Studio. Se calcularon frecuencias absolutas y relativas y se utilizó la prueba de Chi cuadrado para evaluar la asociación entre determinantes de virulencia y sitio de infección y mortalidad. **Resultados:** Se obtuvieron 1203 secuencias de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas provenientes de 8 países Sudamericanos. Los biomarcadores genéticos de hipervirulencia encontrados fueron los genes codificadores de aerobactina (1.1%), salmoquelina (0.1%) y el gen *rmpADC* (<0.1%). Otros determinantes de virulencia encontrados fueron yersiniabactina (53.2%), colibactina (24.7%), y los serotipos capsulares K64 (13.9%), K2 (2.2%) y K1 (0.1%). Las secuencias tenían como información asociada

sexo (39.7%), edad (38.8%), comorbilidad (31.8%) y desenlace (8%). Se encontró una asociación entre un puntaje de virulencia bajo y una mayor mortalidad y enfermedad invasiva. **Conclusión:** Se describe la existencia de secuencias de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa de Sudamérica con biomarcadores de hipervirulencia. Sin embargo, estos biomarcadores de hipervirulencia y otros determinantes genéticos de virulencia se encontraron en menor frecuencia en comparación con Asia y Europa. Por otro lado, se identificó la presencia de secuenciotipos de alto riesgo como el ST11, ST258 y ST437 en todo el territorio Sudamericano lo que resalta la importancia en mejorar la vigilancia genómica en la región.

Palabras clave: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta, determinantes genómicos de virulencia, resistencia a carbapenémicos, carbapenemasa, enterobacteria resistente a carbapenémicos

ABSTRACT

Background: Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* can cause invasive infections in healthy and immunosuppressed patients. The overlap of hypervirulent phenotype with the carbapenem resistance phenotype is of particular importance and is the subject of epidemiological and genomic surveillance in East Asia, Europe, and North America. However, this surveillance is scarce in low and middle-income countries and there is a lack of information in South America. **Objectives:** Identify genetic biomarkers of hypervirulence and other genetic determinants of virulence in complete genomes of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* clinical isolates from South America, as well as their clinical-epidemiological characteristics, and evaluate the association between the presence of virulence determinants and site of infection and mortality. **Methods:** A systematic search of genomic sequences was carried out from original studies and the NCBI genome database. The sequences were analyzed with the Kleborate tool, and the metadata was analyzed with R Studio. Absolute and relative frequencies were calculated, and the Chi square test was used to evaluate the association between virulence determinants and site of infection and mortality. **Results:** 1203 CRKp sequences were obtained from 8 South American countries. The biomarkers of hypervirulence found were aerobactin (1.1%), salmochelin (0.1%), *rmpADC* gene (<0.1%). Other virulence determinants found were yersiniabactin (53.2%), colibactin (24.7%), and the capsular serotypes K64 (13.9%), K2 (2.2%) and K1 (0.1%). The sequences had associated information: sex (39.7%), age (38.8%), comorbidity (31.8%) and outcome (8%). An association was found between a low virulence score and increased mortality and invasive disease. **Conclusions:** The study describes the co-

occurrence of *K. pneumoniae* whole genome sequences with carbapenemases genes and biomarkers of hypervirulence. However, both biomarkers of hypervirulence and genetic determinants of virulence were found less frequently in these isolates compared to those in Asia and Europe. On the other hand, the presence of high-risk sequence types such as ST11, ST258, and ST437 across South America was identified, highlighting the importance of improving genomic surveillance in the region.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, virulence determinant, carbapenem resistance, carbapenemase, carbapenem-resistant enterobacterales

1. Introducción

1.1 Marco teórico

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y múltiples organismos internacionales tales como el Centro para Control la Prevención de Enfermedades (CDC), Organización Panamericana de la Salud (OPS) y el Departamento de Salud del Reino Unido han designado a *K. pneumoniae* resistente a los carbapenémicos como un patógeno de prioridad crítica, en vista de que representa una amenaza inmediata para la salud humana (1-4). *K. pneumoniae* es una bacteria Gram negativa de la familia *Enterobacteriaceae*, tiene la particular capacidad de acumular distintos mecanismos de resistencia a antibióticos, así como determinantes de virulencia gracias a elementos genéticos móviles. Esta facultad de adquisición de múltiples genes de resistencia a antimicrobianos ha convertido a *K. pneumoniae* en uno de los principales agentes etiológicos de las infecciones asociadas a atención en salud (5).

1.2 *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos (KpRC)

Clásicamente se ha descrito a las infecciones causadas por *K. pneumoniae* como oportunistas en pacientes hospitalizados con múltiples comorbilidades. Esta bacteria ha ido adquiriendo diversos mecanismos de resistencia desde β -lactamasas hasta más recientemente las carbapenemasas, las cuales son enzimas capaces de hidrolizar el anillo β -lactámico presente en la estructura de los carbapenémicos (6). En la actualidad, la producción de carbapenemasas es el mecanismo de resistencia a carbapenémicos más común (7). Desde su primer reporte en el continente americano en 2001 (8), secuenciotipos de KpRC se han diseminado con éxito en

todo el continente como el ST11 y ST258 (9). En los últimos años, se ha observado un aumento de casos de KpRC en Sudamérica, llegando a tener una prevalencia de hasta el 20% (9), catalogando a estas infecciones como endémicas en ciertas regiones del continente (10). En Perú, la mayor proporción de estas infecciones están asociadas a la atención en salud (11) y se ha observado un rápido incremento desde el 2017 (12) por lo que urge reforzar los métodos de vigilancia para entender la carga sanitaria asociada a esta bacteria.

1.3 El surgimiento de *K. pneumoniae* hipervirulenta (KpHV)

Desde mediados de la década de 1980 han surgido linajes con características hipervirulentas. KpHV ha suscitado interés debido a su capacidad de producir infecciones diseminadas adquiridas en la comunidad, como abscesos hepáticos piógenos, osteomielitis y endoftalmitis, tanto en población inmunodeprimida como sana (13). La definición de KpHV ha ido cambiando con el tiempo con el creciente conocimiento genómico y estudios experimentales *in vivo*. Anteriormente se tomó el fenotipo hipermucoviscoso (definido por la formación de un hilo de moco de >5mm que se forma al estirar la colonia bacteriana con el asa de siembra, a lo cual se conoce como el “string test”) como marcador de hipervirulencia. Posteriormente se identificó diversos genes asociados a la producción de cápsula, genotóxicas, sideróforos, fimbrias y variantes en vías metabólicas que estaban altamente asociados a una mayor virulencia, infectividad y menor supervivencia del huésped (14). Los mecanismos por los cuales *K. pneumoniae* adquiere mayor virulencia pueden ser clasificados en diferentes grupos que comparten características y funciones: cápsula, cambios estructurales en el lipopolisacárido (LPS), producción de sideróforos, expresión de fimbrias y metabolismo de alantoína (13,14).

Cápsula

La cápsula actúa como una capa protectora que inhibe la fagocitosis, promueve la defensa hacia péptidos antimicrobianos y el complemento. Se ha comprobado que la cápsula incrementa la virulencia en el modelo murino (15). La variación en los componentes de polisacáridos capsulares permite diferenciar los antígenos K, que pueden ser categorizados serológicamente (15). Los serotipos capsulares asociados con KpHV son el K1, K2, K5, K20, K57 y K64. (14-15-16-17-18-19). Se ha observado que los aislados con serotipo capsular K1 presentan mayor resistencia a la destrucción por neutrófilos, sugiriendo una mayor facilidad para producir infecciones diseminadas. Los macrófagos reconocen secuencias repetidas de manosa o ramnosa con sus receptores de lecitina, sin embargo, se ha visto que ciertos serotipos capsulares como K1, K2 y K5 no presentan dicha región antigénica por lo que podría disminuir el reconocimiento inmune por los macrófagos (20).

Los clusters genéticos que codifican la síntesis capsular son llamados *rmpA/A2* (regulador del fenotipo mucoide A/A2) y *magA* (gen asociado a mucoviscosidad A) y se encuentra de manera exclusiva en serotipos capsulares K1 (5, 21). El gen *magA* ha sido encontrado en 98% de los aislados clínicos de *K. pneumoniae* productores de enfermedad invasiva hepática, en comparación con 29% de los aislados productores de enfermedad no invasiva (21).

Sideróforos:

El hierro es un oligoelemento crucial para el desarrollo de la bacteria dentro del huésped. Uno de los cambios fisiológicos dentro del huésped enfrentado a una

infección bacteriana es el secuestro de hierro, lo que limita la supervivencia bacteriana. Esta disminución en la disponibilidad del hierro ha llevado a las bacterias a adquirir mecanismos más efectivos en la adquisición de éste dentro del huésped. Los sideróforos tienen mayor afinidad por el hierro que los mecanismos de secuestro férrico de la respuesta inmune humana (22). La expresión de distintos sideróforos en *K. pneumoniae* optimizaría la colonización en distintos tejidos y fluidos. Los principales sideróforos encontrados en KpHV son enterobactina, yersiniabactina, salmoquelina y aerobactina.

Enterobactina

Dentro de la clase de sideróforos, es el que presenta mayor afinidad por el hierro (23). La biosíntesis de este sideróforo está regulada por un complejo grupo de genes. El cluster *entABCDEF* codifica las proteínas que serán secretadas al medio para unirse al hierro, a diferencia del cluster *fepABCDG* que codifica las proteínas de transporte (específicamente *fepA* es responsable del recapturador de enterobactin) (24). Por otro lado, enterobactin es el único sideróforo que es neutralizado de manera efectiva por el huésped. La lipocalina-2 es una gelatinasa secretada por los neutrófilos con carácter multifuncional. En respuesta a esto, KpHV aumenta la biosíntesis del complejo enterobactina principalmente sobreexpresando el gen *fepA* (25). Se ha visto que la ausencia de lipocalina-2 facilita la salida de *K. pneumoniae* del tejido pulmonar y podría producir una enfermedad invasiva. Asimismo, las cepas de *K. pneumoniae* que únicamente expresan enterobactin pueden ser fácilmente neutralizadas por la lipocalina-2, siendo por lo

tanto importante la expresión de varias clases de sideróforos para aumentar la virulencia (26).

Yersiniabactina

Es un sideróforo que fue en un principio descubierto en *Yersinia* spp., precisamente en la isla de patogenicidad *Yersinia*, la cual se encuentra frecuentemente en aislados de KpHV (90%) a diferencia de los aislados de cepas clásicas (18%) (27). Yersiniabactina es codificado por el grupo de genes *irp* (específicamente los genes *ybt* y *fyu*). En comparación con enterobactina, este sideróforo no es neutralizado por la lipocalina-2 (producida en mayores cantidades en parénquima pulmonar), por lo que se ha visto que los aislados de *K. pneumoniae* de aspirado bronquial suelen presentar en mayor proporción el sideróforo yersiniabactina (28). Sin embargo, este sideróforo es incapaz de secuestrar hierro de proteínas transportadoras de hierro como la transferrina presente en plasma. Por lo tanto, como se mencionó previamente, la expresión de múltiples clases de sideróforo es crucial para obtener la capacidad de producir enfermedad diseminada, lo que explicaría el predominio de *K. pneumoniae* que solo expresan yersiniabactina en infecciones pulmonares y no en infecciones invasivas con diseminación hemática (27-28).

Salmoquelina

El sideróforo salmoquelina es estructuralmente parecido al enterobactina, su diferencia se encuentra en que es la forma c-glucosilada. (29) Así mismo salmoquelina puede ser ubicado a nivel cromosómico y a nivel plasmídico en el cluster del gen *iroA/B* (*iroBCDE*) (30). Debido a su variación estructural con

enterobactin, tampoco es afectado por la lipocalina-2 y es considerado un sideróforo encontrado frecuentemente en aislados nasofaríngeos de *K. pneumoniae*. Se encuentra en 2-4% de los aislados clínicos de la comunidad, pero hay estudios que encuentran una prevalencia de más del 90% en aislados de KpHV (29).

Aerobactina

La copia del gen de la aerobactina *iuc* se encuentra en cantidades comparables a *entH* (enterobactina), *iro* (salmoquelina), y *ybt* (yersiniabactina). Al igual que salmoquelina, los genes que codifican la aerobactina se encuentra en un plásmido. Esto marca una diferencia con los genes que codifican los sideróforos enterobactina y yersiniabactina, los cuales se encuentran a nivel cromosómico. Por otro lado, se ha confirmado que este sideróforo propicia el crecimiento de *K. pneumoniae* en líquido ascítico humano (31). La delección única del gen *iucA* disminuye la virulencia en cepas KpHV *in vitro*, lo que indicaría su importante rol en la hipervirulencia, aunque hasta el momento no se ha determinado si su rol es a nivel de la colonización *versus* invasión (32). Es importante entender que la presencia de estos determinantes de virulencia no necesariamente refleja un fenotipo hipervirulento (33). De esto se desprende que la presencia de los genes asociados a virulencia y su respectiva expresión en distintos huéspedes es compleja y amerita mayor investigación. Es importante entender que la presencia de estos determinantes de virulencia no necesariamente refleja un fenotipo hipervirulento. De esto se desprende que la presencia de los genes asociados a virulencia y su respectiva expresión en distintos huéspedes es compleja y amerita mayor investigación.

1.4 Definición KpHV

El marcador de hipermucoviscosidad (string test) es insuficientemente sensible y específico para la identificación de las cepas KpHV. Se ha propuesto que la definición sea marcada por la presencia genes predictores de hipervirulencia (32). Por ejemplo, Russo et al. han propuesto como biomarcadores genéticos la presencia de los genes *iro*, *iuc*, *rmpA/rmpA2* y *peg-344* como predictores de hipervirulencia. La presencia de cualquiera de estos genes tiene una sensibilidad para detectar KpHV de 97 a 99% y una especificidad de 93 a 96%. (32) Por otro lado, Chen *et al.* utilizó los genes *iro*, *iuc* y *rmpA/rmpA2* como biomarcadores de hipervirulencia confirmando que el 85% de las cepas portadoras de estos genes eran fenotípicamente hipervirulentas en el modelo murino (34)

1.5 Epidemiología global

Los primeros reportes de casos de KpHV fueron descritos en el este asiático al final de los años ochenta, estos fueron rápidamente aumentando hasta volverse una de las bacterias con mayor vigilancia epidemiológica a nivel asiático (35,36). En Taiwán, en donde se reportaron los primeros casos hace más de 30 años, se ha visto un incremento de 60% en la incidencia de abscesos piogénicos causados por KpHV entre 1996 y 2004 (37). Asimismo, 88.8% de los aislados clínicos de abscesos extrahepáticos producidos por *K. pneumoniae* tenían el fenotipo hipermucoviscoso. Posteriormente se observó que 42.2% de aislados de bacteriemia por *K. pneumoniae* en Corea del Sur tenían dicho fenotipo (38). Un estudio en Irán también ha identificado que 61% de sus aislados de *K. pneumoniae* de distintos pacientes tenían el fenotipo hipermucoviscoso (39). La alta incidencia y endemidad en el este

asiático ha suscitado interés en el estudio de este fenotipo. En 2002 Ko *et. al* analizaron las características fenotípicas y genotípicas de los aislados clínicos de KpHV a nivel global y encontraron que existía un linaje de *K. pneumoniae* causantes de abscesos hepáticos que se ubicaba casi exclusivamente en Taiwán. Este hallazgo sugería que la alta incidencia de KpHV podía ser resultado del desarrollo de linajes locales con mayor supervivencia y patogenicidad en una ubicación geográfica (40). En paralelo, se ha observado que las personas de origen asiático tienen mayor incidencia de infecciones causadas por este patógenos, incluso si viven fuera de áreas endémicas, lo que sugiere que existe una predisposición genética que podría ser causante de la mayor incidencia endémica en países de la costa este asiática (37). No obstante, la diferencia entre los métodos de viajes, duraciones de viajes, dietas y exposiciones son consideraciones alternativas para estos hallazgos. Por este motivo, es necesario un mayor avance en investigación para determinar si el patrón endémico de KpHV se debe a una susceptibilidad genética de los hospederos o si se trata de una exposición a patógenos definida geográficamente.

Por otro lado, en un estudio observacional realizado en Taiwán, se observó un incremento de enfermedad invasiva causada por KpHV sin la necesidad de un foco hepático primario. De 83 pacientes con bacteriemia de la comunidad por KpHV, 37% tenían abscesos hepáticos piogénicos como lesión primaria y 22% no tenían ningún foco identificable. El resto de los pacientes tenían como foco primario infecciones urinarias, neumonías, infección de tejidos blandos e infecciones del tracto biliar (41). Este hallazgo indica que KpHV no produce únicamente el

síndrome asociado a absceso hepático piógeno, sino que es capaz de causar una enfermedad invasiva sin foco identificable.

1.5 Emergencia de cepas con superposición de fenotipo resistente e hipervirulento

A pesar de que la mayor proporción de cepas de KpHV son sensibles a antibióticos, se ha descrito un aumento en la detección de aislados clínicos que presentan una superposición entre el fenotipo hipervirulento y la adquisición de múltiples mecanismos de resistencia a antimicrobianos. Siendo los aislados que presentan resistencia a carbapenémicos los que representan una mayor carga sanitaria para el sector salud (42). La razón de esta diferencia en la proporción de resistencia a antibióticos encontrados en los aislados de *K. pneumoniae* clásicos y cepas hipervirulentas no es del todo clara. (43) Aparte de la resistencia intrínseca a la ampicilina, los aislados de KpHV generalmente son sensibles a la mayoría de los antibióticos. Sin embargo, la diseminación global de los elementos genéticos móviles como los genes que codifican carbapenemasas del tipo *KPC*, *NDM* y oxacilinasas 48 (*OXA-48*) han tenido como resultado la aparición en los últimos años de cepas de *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos hipervirulentas (CR-hvKP). Países endémicos tales como China han desarrollado programas de vigilancia en respuesta al incremento de CR-HvKp. En 2015, se aislaron 33 cepas de KpRC, las cuales 4 (12%) fueron catalogadas como hipervirulentas (44). En otro estudio retrospectivo igualmente hecho en China, se analizaron 28 casos de KpCR con resultados similares (18% presentaban fenotipo hipervirulento) (45). Se calcula que la prevalencia de KpHV en aislados de KpRC se encuentra entre 7.4-15% en el territorio chino (46). Por otro lado, se ha visto que la diseminación de la clona ST11

y ST23 ambas expresando el gen *bla_{KPC-2}* están asociada a un fenotipo hipervirulento en China. Se ha observado que 94.4% de los aislados clínicos de CR-HVKp de China presentaban el mecanismo de resistencia *bla_{KPC-2}* (47). La adquisición de determinantes de virulencia ha sido particularmente descrita por la transmisión horizontal de plásmidos *pLVPK-like*, portadores de regiones que confieren resistencia a antimicrobianos y determinantes de virulencia como el *rmpA/A2* y el cluster genético *iucABCD* (48).

En el occidente se han reportado brotes y casos aislados de CR-hvKp, como en Francia en donde se describió dos cepas catalogadas como hipervirulentas de origen clínico K2 ST86, portadoras de la carbapenemasa *bla-OXA-48*; y en Italia se aislaron cepas con fenotipo hiper mucoviscoso *bla-OXA-48* y *bla-NDM5* (49-50). En los últimos años se han reportado casos de *K. pneumoniae* causante de enfermedad invasiva e hiper mucoviscosa en países de Sudamérica, como en Brasil, se ha descrito aislados de *K. pneumoniae* con fenotipo hiper mucoviscoso en 6.7% de aislados hospitalarios de pacientes con nutrición enteral y ST11 CR-hvKP como causante de infección invasiva (51, 52). En Argentina, se aislaron 35 cepas de *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos que tenían un fenotipo hiper mucoviscoso y presentaban múltiples determinantes de virulencia como la presencia de fimbrias (97%), sideróforos (94%) y serotipo capsular K2 (69%) (53). Desde sus primeros reportes en 2013, múltiples aislados de KpRC han sido descritos en nuestro territorio nacional (54). Los principales mecanismos de resistencia a carbapenémicos en el territorio peruano son NDM (59%) y KPC (37%) pero todavía existe una brecha en el conocimiento sobre la presencia de determinantes de virulencia en los aislados de KpRC del territorio peruano (11). Gracias a los avances en métodos moleculares de

los últimos años, se han propuesto modelos de vigilancia genómica basada en la identificación de diferentes características en el genotipo de cepas clínicamente relevantes, con la finalidad de identificar secuenciotipos de intereses que podrían ser altamente perjudiciales para salud, tanto en aislados de pacientes hospitalizados y de la comunidad. En el caso de *K. pneumoniae*, se propone identificar los secuenciotipos de interés con la tipificación de Multilocus de Secuencia (MLST) y Complejos Clonales (CC) e identificar genes de resistencia a antimicrobianos y determinantes de hipervirulencia más prevalentes por secuenciotipos así como su posible transmisión de elementos genéticos móviles, para así entender su diseminación en el sistema de salud (55,56).

2. Justificación:

La aparición de brotes de KpHV en regiones occidentales evidencia que la propagación de esta bacteria no se limita al continente asiático, sino que representa un problema global que requiere atención y estudio a nivel regional y nacional. La potencial diseminación global de cepas de *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos hipervirulentas representa una amenaza inmediata para la salud humana. Avances recientes en biología molecular han permitido el desarrollo de sistemas de vigilancia genómica que se centran en la identificación de genes específicos que marcan resistencia a carbapenémicos y determinantes de virulencia. Este tipo de sistema de vigilancia basado en el tamizaje de genes facilita el análisis de características y similitudes entre secuencias genéticas, especialmente en aquellas de alto riesgo. (6,7,10). A pesar de que la definición de hipervirulencia se determina de manera más precisa mediante estudios en modelos animales, se han

identificado biomarcadores de hipervirulencia capaces de predecir con una sensibilidad mayor del 90% si una cepa es hipervirulenta. (32) Por ello, en este estudio se planteó realizar un tamizaje genético de secuencias de KpRC como primer paso para entender la extensión de la convergencia de hipervirulencia y resistencia a carbapenémicos mediada por la producción de carbapenemasas en Sudamérica (29-32). Para llevar a cabo un tamizaje exhaustivo, se investigaron genes identificados como biomarcadores de hipervirulencia, así como otros determinantes genéticos de virulencia. Adicionalmente, se examinaron otros determinantes de virulencia.

3. Objetivos

Objetivo general:

Determinar cuáles son los biomarcadores genéticos de hipervirulencia y otros determinantes de virulencia presentes en aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas de Sudamérica

Objetivos específicos:

1. Determinar la frecuencia en que se encuentran los biomarcadores genéticos de hipervirulencia y otros determinantes de virulencia encontrados en aislados clínicos de *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasas reportados en Sudamérica.
2. Evaluar la proporción de secuencias genómicas de *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasas de Sudamérica públicamente

disponibles que cuentan con información clínica y epidemiológica asociada.

3. Evaluar la asociación entre la presencia de determinantes genéticos de hipervirulencia y virulencia (i.e. sideróforos, serotipo capsular, puntaje de virulencia) y la presentación clínica (i.e., invasividad de la infección y mortalidad)

4. Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional, transversal, con un análisis genómico comparativo secundario. Se realizaron dos métodos de búsqueda con la finalidad de incluir el mayor número de secuencias de *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasas públicamente disponibles en Sudamérica.

Búsqueda 1:

Búsqueda bibliográfica sistematizada de artículos

Se realizó una búsqueda sistematizada de artículos originales en las bases de datos *Pubmed*, *LILACS* y *SciELO*, se incluyeron únicamente los artículos que utilizaban en su metodología el secuenciamiento genómico completo de KpRC.

Se utilizaron los pasos propuestos por Arksey, O'Malley y Levac *et al.* para realizar una búsqueda sistematizada (57).

Pasos propuestos por Arksey, O'Malley y Levac *et al.*:

1. Definir la pregunta de investigación.

2. Búsqueda avanza en 3 bases de datos de los estudios relevantes (*Pubmed, Scielo, LILACS*)
3. Selección de los estudios según los criterios de inclusión
4. Registro de los datos
5. Resumen e informe de los resultados
6. Revisión de la información por un experto en el tema.

La revisión siguió las pautas establecidas por los Ítems de referencia para publicar Protocolos de Revisiones Sistemáticas y Metaanálisis: Declaración PRISMA-P (2015). (58)

Criterios de inclusión:

- Artículos originales
- Escritos en español, inglés, portugués
- Publicados entre 2000 y 2021
- Se utilizó secuenciación completa del genoma de aislados clínicos de KpRC
- Los aislados de KpRC fueron recuperados de cualquier país de Sudamérica.

Criterios de exclusión:

- Artículos de revisión de la literatura

Se incluyeron los países de Sudamérica según la definición establecida por *Encyclopedia Britannica*; Designación geográfica del subcontinente americano que se encuentra al sur del Panamá. Conformado por 13 países soberanos (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Guyana, Paraguay, Perú, Surinam, Trinidad y Tobago, 2 departamento de ultramar y región ultraperiférica de la Unión

Europea (Guyana Francesa y Bonaire) y 2 Territorios autónomos (Aruba y Curazao) (59).

Pubmed

La primera búsqueda se realizó en el motor de búsqueda de artículos “*Pubmed*” en donde se utilizaron los términos *mesh* y *entry terms* en la herramienta de búsqueda avanzada de la siguiente manera:

(((*Klebsiella pneumoniae*) AND (sequencing)) OR ((*Klebsiella pneumoniae*) AND (genome)) OR ((*Klebsiella pneumoniae*) AND (carbapenemase) OR ((*Klebsiella pneumoniae*) AND (carbapenem resistance))), aplicando filtros de artículos, para obtener únicamente *Reporte de casos, artículos clásicos, estudios clínicos, ensayos clínicos, ensayos observacionales, ensayos clínicos aleatorizados*. Y restringió de año de publicación entre 2000-2021 (60).

SciELO y LILACS

En los motores de búsqueda *SciELO* y *LILACS* se realizaron dos búsquedas en cada plataforma utilizando las palabras “*Klebsiella pneumoniae resistente carbapenemicos*” y “*Klebsiella pneumoniae carbapenemasa*” sin aplicar filtros de artículos (61,62).

Búsqueda 2:

Búsqueda de secuencias genómicas en base internacional de genomas

Se realizó una búsqueda de secuencias genómicas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de carbapenemasas en el motor de búsqueda “*Isolates Browser*” del

NCBI. (63) Se aplicaron los siguientes filtros para restringir la búsqueda; “Organism group” se restringió únicamente a “*Klebsiella pneumoniae*,” en el filtro “Scientific name” se filtró a “*Klebsiella pneumoniae*” para restringir subespecies del complejo *K. pneumoniae*. Se realizó un filtró en las fechas de creación “creation date” del 1 enero 2000 al 11 de noviembre 2022. En el filtro “isolation type” se restringió la búsqueda a muestras clínicas (*clinical*) y la talla de las secuencias genómicas (“length”) se restringió a 4 000 000 y 6 000 000 de pares de bases para excluir elementos genéticos móviles o secuencias incompletas.

Se buscó únicamente países del continente sudamericano en el filtro “Location”; Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Uruguay, Paraguay, Venezuela, Guyana, Surinam, Aruba, Curazao, Trinidad y Tobago. Únicamente se encontraron secuencias en los filtros de Argentina, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela.

Finalmente se realizó un filtro con “AMR genotypes” en donde se seleccionó los genes de carbapenemasa de la familia la familia *bla-KPC*, *bla-NDM-1*, *blaOXA-48*, *blaOXA-181* *bla-VIM-1* y *blaIMP-1*. Se utilizó la presencia de un gen de carbapenemasa como proxy de resistencia a carbapenémico debido a que las secuencias no contaban con información fenotípica de resistencia antimicrobiana en la página *Isolate Browser* y considerando que la producción de carbapenemasa es el mecanismo más común de resistencia a carbapenémicos (7). Únicamente se identificaron secuencias con carbapenemasas de la familia KPC, NDM, OXA-181, VIM-1 e IMP-1.

Secuencias proporcionadas por el Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt (IMTAvH)

Con la finalidad de aumentar la representación de Perú en el análisis genómico comparativo, el IMTAvH de la Universidad Peruana Cayetano Heredia proporcionó 63 secuencias de genomas completos de KpRC. De estas secuencias, 50 fueron aisladas en el Hospital Cayetano Heredia en Lima, 13 provienen del estudio VIRAPERU y fueron aisladas en Lima y Trujillo. Estos aislados fueron recolectados entre 2016 y 2019 (64, 65).

Descarga de secuencias de genomas

Búsqueda 1: Posterior a la inclusión de artículos, se buscaron los *accession code* reportados en los artículos, siendo estos un identificador único de las secuencias públicamente disponibles utilizados para identificar y descargar las secuencias reportadas en los estudios y las bases de datos del NCBI y ENA (62).

Búsqueda 2: Tras aplicar los filtros de búsqueda en la página *Isolates Browser*, la plataforma habilita la opción de descargar tanto las secuencias como un archivo de Excel que contiene la metainformación de dichas secuencias. Las secuencias fueron descargadas en el formato digital FASTA y FASTQ se subieron para ser ensambladas en *Pathogen.watch*. (66)

Metainformación:

La metainformación de las secuencias reportadas por los estudios fue encontrada en las tablas de los artículos y en los materiales suplementarios. En cuanto a las secuencias descargadas de la base de datos *Isolates Browser*, se descargó la metainformación a la par de cada secuencia descargada en Microsoft Excel. Asimismo, el IMTAvH proporcionó la metainformación de sus secuencias. La

metainformación registrada fue país de aislamiento, fuente de aislamiento, fecha de aislamiento, enfermedad actual o comorbilidad, sexo, edad y mortalidad.

Herramientas de análisis bioinformático

Las secuencias obtenidas a través de la búsqueda 1 y 2 y las proporcionadas por el IMTAvH fueron cargadas en bloque en la página *Pathogen.watch* (66), analizadas con *Kleborate* v2.3.0 (67) y descargadas en Microsoft Excel 2016. La herramienta *Kleborate* analiza las secuencias en formato FASTA y realiza un informe de la calidad del ensamblaje de las secuencias, identifica la especie a que pertenece la secuencia, determina el MLST, el serotipo capsular, determinantes genéticos de virulencia (excepto fimbrias y el sideróforo enterobactina) como los sideróforos (yersiniabactina, colibactina y aerobactina) el gen regulador de fenotipo mucoso (*rmpA/A2* y sus análogos), mecanismos de resistencia a antimicrobianos (beta-lactamasas, mutaciones en osmoporinas, carbapenemasas, mutaciones en los genes *MgrB/PmrB* y *GyrA/ParC*) y realiza un puntaje de resistencia y virulencia. El puntaje de virulencia es un resumen creado por *Kleborate* que refleja la acumulación de loci de genes de virulencia y su correlación con hipervirulencia (0=ningún sideróforo, 1=solo yersiniabactina, 2=colibactina sin aerobactin (independiente de la presencia de yersinabactina), 3=solo aerobactina, 4=aerobactina y yersiniabactina (independiente de colibactina), 5=todos los sideróforos). Únicamente la confirmación de especie, MLST, serotipo capsular, identificación de carbapenemasa y determinantes de virulencia se incluyeron para el análisis.

Control de calidad de secuencias

a) Confiabilidad de las bases de datos de secuencias

Las bases de datos *Isolate Browser* y el ENA requieren los investigadores suban secuencias con estándares de curación que pasan por controles de calidad iniciales. El primer filtro de calidad fue la longitud de la secuencia, descargando solo secuencias que tengan una longitud de 4 a 6.5 MB.

b) Control de calidad de secuencias ensambladas

El propósito principal del análisis de las secuencias en nuestro estudio fue estimar la frecuencia de genes específicos, no realizar un análisis filogenético basado en máxima verosimilitud. Consecuentemente, se omitió el protocolo estándar de control de calidad de secuencias que se aplica para análisis filogenéticos, permitiéndonos así incorporar un volumen más amplio de secuencias que representen los países sudamericanos. No obstante, las secuencias que no cumplían con algún control de calidad de la herramienta *Kleborate* se reportaron en limitaciones (66).

c) Verificación de los criterios de inclusión

Por última instancia, se creó una base de datos en Microsoft Excel 2016 en donde se unió la información genómica proporcionada por *Kleborate* de cada secuencia con su respectiva metainformación, incluyendo país de recolección, fecha de recolección, sitio de toma de muestra y si se encontraba de manera disponible; sexo, edad, comorbilidad y desenlace. Posterior a la creación de esta base de datos

unificada, se realizó un último filtro de calidad y se aplicaron los siguientes criterios de inclusión de secuencias:

Criterios de inclusión de secuencias

- Especie: *Klebsiella pneumoniae sensu stricto*
- Aislada de una fuente clínica
- Recolectada en un país de Sudamérica
- Aislada entre 2000-2021
- Secuencias que tengan un gen de carbapenemasa o más

Categorización de la presentación clínica

Se categorizaron los sitios de toma de muestra en dos para el análisis de asociación de puntaje de virulencia e invasividad. Las secuencias obtenidas a través de un aislamiento de sangre, pleura y sistema nervioso central fueron categorizadas como causantes de enfermedad invasiva y las obtenidas a través de orina, sistema respiratorio y piel fueron categorizadas como causantes de enfermedad no invasiva. Los sitios de toma de muestra excluidos fueron líquido articular, hueso, colecciones intrabdominales, líquido peritoneal, catéter e hisopados rectales por la posibilidad a ser secundario a un evento infeccioso por continuidad, iatrogenia, colonización y no una siembra hematógena clásicamente descrita en KpHV.

Mortalidad

Los artículos y el IMTAvH reportaron en la metainformación de las secuencias el desenlace de 123 pacientes, este se definió como la muerte o la supervivencia del

paciente posterior al aislamiento de *K. pneumoniae*. Se registró la variable de desenlace como una variable dicotómica (vivo/fallecido) para el análisis.

Determinantes de virulencia incluidos para el análisis

Los determinantes genéticos de virulencia analizados por *Kleborate* son el serotipo capsular, los sideróforos (yersiniabactina, colibactina, aerobactina y salmoquelina), el gen regulador del fenotipo mucoide y sus análogos (*rmpA/A2* y *rmpADC*) y el puntaje de virulencia. Estos fueron categorizados en la siguiente manera:

a) Biomarcadores genéticos de hipervirulencia

Los biomarcadores genéticos de hipervirulencia incluidos fueron los genes codificadores de aerobactina, salmoquelina y el gen regulador del fenotipo mucoide y sus análogos (*rmpA/A2* y *rmpADC*). (anexo 1)

b) Otros determinantes de virulencia

Otros determinantes genéticos de virulencia evaluados fueron el serotipo capsular (específicamente los asociados a hipervirulencia K1, K2, K5, K20, K57 y K64), los sideróforos (yersiniabactina, colibactina, y el puntaje de virulencia. (anexo 1)

Análisis descriptivo

El análisis descriptivo estimó las frecuencias absolutas y relativas del país de origen, el sitio de toma de muestra, los secuenciotipos y serotipos capsulares principales, determinantes de virulencia y principales genes de carbapenemasas.

Análisis de asociación

Para el análisis de asociación entre la presencia de determinantes de virulencia (i.e. sideróforos, serotipo capsular, puntaje de virulencia) y presentación clínica (i.e. invasividad y mortalidad) se evaluó la asociación mediante la prueba de Chi-cuadrado al tratarse de variables nominales categóricas. Las tablas de contingencias y cálculo de Chi-cuadrado fueron realizadas en R Studio y se tomó $p < 0.05$ como valor de significancia. Las variables con un $n < 5$ por columna fueron excluidas para el análisis estadístico por presentar un número insuficiente para realizar la prueba de Chi-cuadrado (puntaje de virulencia de 3 y 4, aerobactina, salmoquelina, serotipo capsular K1 y K2) pero incluidas en las tablas descriptivas.

5. Resultados

Se obtuvieron un total de 894 artículos a partir de la búsqueda 1: *Pubmed* ($n=754$), *SciELO* ($n=44$) y *LILACS* ($n=96$), de los cuales 13 fueron incluidos para la búsqueda de secuencias luego de la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión. Estos artículos incluidos reportaron 578 secuencias, sin embargo, solo se encontraron 546 secuencias en formato FASTA y FASTQ del banco de secuencias Genbank y ENA (*European Nucleotide Archive*) (60, 68) (Figura 1)

Se encontraron un total de 67,833 secuencias de la especie *K. pneumoniae* a través de la búsqueda 2, de las cuales 812 secuencias fueron incluidas luego de la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión (Figura 2).

Inclusión de secuencias:

Se obtuvieron 1358 secuencias a través de la búsqueda de secuencias públicamente disponibles a las cuales se agregaron 63 secuencias proporcionadas por el IMTAvH, obteniéndose en total 1421 secuencias. Luego de aplicar el segundo filtro de calidad y exclusión (materiales y métodos), se excluyeron 218, quedando un total de 1203 secuencias para el análisis; 1144 secuencias públicamente disponibles y 59 secuencias del IMTAvH (Apéndices: Figura 3). Las 1144 secuencias públicamente disponibles fueron recolectadas en 8 países sudamericanos; 562 secuencias de Colombia (49.1%), 463 de Brasil; (40.5%), 54 de Argentina (4.7%), 27 de Perú (2.4%), 18 de Ecuador (1.6%), 16 de Uruguay (1.4%), 2 de Chile (0.2%) y 2 de Venezuela (0.2%) (Figura 4).

Características de las secuencias de KpRC recolectadas en Sudamérica entre 2000 y 2021.

El 85.4% de las secuencias reportaron sitio de toma de muestra, los más comunes fueron sangre (31.5%), orina (21.8%), heces e hisopados retales (8.0%) y sistema respiratorio (8.0%) (Tabla 1). La clase de carbapenemasa más común fue KPC (81.4%), seguido por NDM (13.8%). KPC fue la más frecuentemente encontrada en todos los países excepto en Perú, Chile y Venezuela (8.1%, 0% y 0% respectivamente). Se encontraron 25 secuencias que presentaban más de 1 gen de carbapenemasa (2.1%) (Figura 4). Los secuenciotipos más comunes encontrados fueron el ST11 (26.4%) y ST258 (20.6%), en Perú los secuenciotipos más comunes fueron ST45 y ST147. Los 6 secuenciotipos más comunes representaban 62.4% de las 1203 secuencias encontradas en Sudamérica (Figura 5).

Frecuencia de los determinantes de virulencia las secuencias de KpRC recolectadas en Sudamérica entre 2000 y 2021

Biomarcadores de hipervirulencia

Entre las secuencias analizadas, se identificaron 13 (1.1%) que portaban el gen de aerobactina. Notablemente, una de estas secuencias también presentaba los genes de salmoquelina y *rmpADC* (0.1%).

Otros determinantes genéticos de virulencia Se identificaron los sideróforos yersiniabactina y colibactina con frecuencia de 53.2% y 24.7%, respectivamente.

Los serotipos capsulares más comúnmente asociados con hipervirulencia, encontrados en nuestro estudio, fueron K64 (13.9%), seguido por K2 (2.2%) y K1 (0.1%). No se detectaron los serotipos capsulares K5, K20 ni K57. Alrededor de tres cuartas partes de las secuencias presentaron puntajes de virulencia entre 0 y 1. Un cuarto de las secuencias registró un puntaje de virulencia de 2. Menos del 2% alcanzó puntajes de virulencia de 3 o 4, y no se identificaron secuencias con puntaje de 5. (Tabla 3)

Características clínicas y epidemiológicas de las secuencias de KpRC recolectadas en Sudamérica entre 2000 y 2021.

El 41.5% de las secuencias tenían la información de edad registrada, el rango de edad se encontraba entre recién nacidos hasta los 96 años (promedio de 57.6 años), el 42.6% de las secuencias reportaron sexo, 60.8 % de dichas secuencias fueron de sexo masculino y 39.2 % de sexo femenino. El 31.8% de las secuencias reportaron al menos una comorbilidad la comorbilidad más común fue ser receptor de un

trasplante de órgano sólido (20.9) y la enfermedad de la huésped reportada más común fue bacteriemia o sepsis (19.3%). El 8% de las secuencias reportaron mortalidad de las cuales 32.5% fallecieron (Tabla 1).

Información públicamente disponible

En este estudio se observó que únicamente 85.4% de las secuencias reportaron sitio de toma de muestra, menos del 40% de las secuencias tenían información sobre sexo y edad, 30% reportaba alguna comorbilidad o enfermedad actual y únicamente 10% reportaron información sobre mortalidad.

Asociación entre determinantes genómicos de virulencia e invasividad

El sideróforo yersiniabactina y colibactina se encontraron en menor proporción en las secuencias aisladas de pacientes con enfermedad invasiva ($p < .001$ y $p = 0.018$ respectivamente). No se encontró asociación entre la presencia de serotipos capsulares K2 y K64 y enfermedad invasiva ($p = 0.526$ y $p = 0.066$ respectivamente). Se observó que el puntaje de virulencia de 0 se encontraba en mayor frecuencia en secuencias categorizadas como proveniente de enfermedad invasiva y que el puntaje de virulencia de 1 y 2 se encontraba en mayor frecuencia en las secuencias categorizadas como proveniente de enfermedad no invasiva ($p < 0.001$). (Tabla 4)

Determinante de virulencia y mortalidad

Un total de 123 (10.2%) de secuencias contaban con información de desenlace (fallecido o vivo). Las secuencias con puntajes de virulencia de 1 y 2 de virulencia fueron provenientes en mayor frecuencia en pacientes que sobrevivieron y las

secuencias con puntaje de 0 fueron proveniente en mayor frecuencia en pacientes que fallecieron de manera estadísticamente significativa ($p < 0.002$). (Tabla 5)

6. Discusión

Frecuencia de determinantes de virulencia en aislados de KpRC de Sudamérica

Los resultados de este estudio nos muestran que, en la región de Sudamérica, los determinantes de virulencia en cepas KpRC se encuentran en una frecuencia mucho menor que en Asia y Europa. No obstante, hay que hacer énfasis que hemos encontrado en el territorio sudamericano múltiples secuenciotipos de alto riesgo como el ST11 (26.4%), ST258 (20.6%) y ST437 (5.4%) que representan un riesgo para la salud humana por su capacidad en adquirir determinantes de virulencia y presentar una rápida diseminación (75). Esto cobra importancia ya que Perú, se notificó un caso de absceso hepático asociado con meningoencefalitis por *K. pneumoniae* con *string test* positivo y en Chile se describió una serie de reporte de casos de 10 pacientes que desarrollaron abscesos hepáticos por *K. pneumoniae* pero en ambos reportes no hubo confirmación por métodos de biología molecular (73,74). Sin estudios de vigilancia genómicos no se puede confirmar una diseminación clonal y por lo tanto entender la dimensión del problema a nivel de la región de Sudamérica.

Comparación de determinantes de virulencia en cepas de KpRC de Sudamérica y globales

En este estudio, encontramos que los sideróforos yersiniabactina y colibactina se encontraron en el 53.2% y 24.7% de las secuencias, respectivamente. En comparación con China, en donde CR-HV_{kP} es endémica, yersiniabactina se encuentra entre 46.4% y 97.2% de las secuencias K_{pRC}, mientras que colibactin se encuentra en la mayoría de las secuencias de K_{pRC} (75). En Europa, la presencia de yersiniabactina en los aislados de K_{pRC} es más común que lo observado en este estudio, mientras que colibactina se encuentra con menos frecuencia en comparación con nuestros hallazgos (76). Por otro lado, se encontró aerobactina en menor frecuencia en este estudio que en países del este asiático y Europa (75,77-80). Aerobactina ha sido descrito específicamente en China en 81.8% de los aislados K_{pRC} K64 productores de bacteriemia. Esto sugiere que aerobactina puede ser encontrado de manera más frecuente en aislados de K_{pRC} proveniente de China que los proveniente de Sudamérica. De la misma manera, en China e Irán se ha descrito que los serotipos capsulares asociados a hipervirulencia K64, K1 y K2 pueden encontrarse presente en hasta 47% de los aislados de K_{pRC} (81-83). En comparación con los resultados de este estudio, en donde K1 y K2 se encontró aproximadamente 2% de las secuencias y K64 en menos del 15%. Esto sugiere que existen variaciones regionales en cuanto a la distribución de cepas con sideróforos y serotipos capsulares específicas para cada región del mundo.

Metainformación asociada con las secuencias de K_{pRC} de Sudamérica

La metainformación asociada con las secuencias es fundamental para realizar estudios epidemiológicos moleculares completos, ya que permiten describir la población que es afectada por K_{pRC} y relacionar los datos genómicos con datos

clínico-epidemiológicos. Con la finalidad de estandarizar la metainformación asociada con las secuencias el *Genomic Standards Consortium* ha definido el *MIGS* (Minimum Information About a Genome Sequence) (84). El MIGS cataloga como mínimo tener información sobre relación con el huésped (enfermedad actual), estado de salud del huésped al momento de la toma de muestra (sintomático, asintomático o mortalidad) pero no información sobre sexo o edad del huésped. Asimismo, no es necesario reportar la información posterior a la toma de muestra lo que podría explicar porque la mortalidad fue reportada únicamente en 8% de los estudios. Hasta el momento existe poco consenso en definir cuál es la mínima metainformación necesaria, distintos modelos de estudios requieren distintos mínimos requerimientos de metainformación, especialmente en estudios que reportan información clínica, en donde se debe mantener la confidencialidad del paciente (85-86). En este estudio se ha podido confirmar que existe poca metainformación epidemiológica asociada a las secuencias publicadas. Este hallazgo es importante ya que visibiliza la necesidad de mejorar esta brecha para poder facilitar estudios epidemiológicos moleculares con secuencias ya existentes.

Análisis de asociación de determinantes de virulencia y presentación clínica

En este estudio se observó que los puntajes de virulencia de 0 y 1 estaban asociados con mayor mortalidad. Estos resultados tienen que ser tomados con cautela, ya que no contamos con información sobre las características de la población, tales como edad, tiempo de hospitalización, uso de ventilación mecánica, comorbilidades y los puntajes de SOFA y APACHE II (87-91). Todos estos factores desconocidos para nuestra población son potenciales confusores ya que su asociación con una mayor

mortalidad se ha descrito previamente. Asimismo, no contamos con información sobre qué tratamiento antibiótico recibió el paciente, lo cual puede tener también un efecto importante en la mortalidad.

En estudios previos, el sideróforo aerobactina y el gen *rmpA* han sido asociados con mayor mortalidad en pacientes infectados por *K. pneumoniae*. Sin embargo, al encontrarse en menos del 1% de las secuencias de este estudio, no fue posible describir una asociación entre su presencia y la mortalidad (90).

La mayor mortalidad en pacientes que fueron infectados con KpRC con puntaje de baja virulencia podría deberse a que los linajes de *K. pneumoniae* con menor virulencia se asocian con mayor resistencia a antibióticos. Esto podría resultar en una terapia antimicrobiana inadecuada resultando en una mayor mortalidad (5).

La variabilidad en la presentación clínica de la infección por KpRC no depende únicamente de la presencia de determinantes genéticos de virulencia. Variables como las características clínicas del paciente y la terapia médica aplicada influyen la presentación clínica. En este contexto, algunos estudios han descrito una relación inversa entre el fenotipo hipermucoviscoso de *K. pneumoniae* y la mortalidad a los 30 días (96). Por otro lado, otro estudio no han una encontrado una asociación entre los determinantes de virulencia y la mortalidad, reforzando la idea de que múltiples factores influyen en el resultado clínico de estas infecciones (97).

7. Limitaciones

La principal limitación de este estudio es que utilizó la presencia de biomarcadores genéticos como proxy de hipervirulencia, por lo que no se pudo confirmar la

hipervirulencia de las secuencias con la presentación clínica ni el modelo animal. Así mismo, se utilizó la presencia de un gen o más de carbapenemasa como proxy de resistencia a carbapenémicos por lo que no se pudo incluir secuencias resistentes a carbapenémicos sin gen de carbapenemasa y se incluyeron secuencias sin confirmación fenotípica de resistencia a carbapenémicos. Se utilizaron la definición Russo et al. Como biomarcadores de hipervirulencia pero el análisis no pudo incorporar el gen *peg-344*, dado que la herramienta bioinformática *Kleborate* no lo considera dentro de su evaluación, lo cual podría resultar en una subestimación de la frecuencia de predictores de hipervirulencia en las secuencias analizadas. Recalamos que 52 (4.3%) secuencias no cumplieron con algún control de calidad, pero fueron incluidas en el análisis con la finalidad de aumentar el volumen de secuencias lo que podría sesgar la frecuencia de determinantes de virulencia. Por otro lado, la categorización de la invasividad, aunque previamente validada en *S. pneumoniae*, podría estar sesgada (72). Este sesgo potencial se debe a que no se identificó el foco inicial de la infección, lo que podría haber llevado a una clasificación errónea de casos invasivos como no invasivos. La información obtenida podría no ser representativa de la realidad de las infecciones por *K. pneumoniae* y de sus determinantes de virulencia en Sudamérica, ya que utiliza solo secuencias públicamente disponibles. La finalidad de este estudio fue exploratoria y descriptiva de los elementos genómicos de virulencia encontrados en las secuencias de genomas completos de aislados clínicos de *K. pneumoniae* productores de carbapenemasas en Sudamérica, los cuales dependen de la capacidad de cada país en secuenciar muestras clínicas.

Esta observación sugiere que los pacientes afectados por este patógeno podrían fallecer antes de que se pueda realizar un aislamiento por hemocultivo. Esto podría resultar en que las cepas más virulentas no sean recuperadas, secuenciadas e incluidas en este estudio (98,99). Por otro lado, existen variables confusoras que pueden influenciar la presentación clínica y que no fueron tomadas en cuenta para el análisis estadístico (i.e., comorbilidades, tiempo de enfermedad, tratamiento médico) dada la limitada metainformación disponible. Asimismo la metodología empleada en este estudio presentó limitaciones en el control de calidad de las secuencias, optando por no realizar un análisis filogenético, se realizó únicamente el control de calidad por defecto de pathogen.watch. Por este motivo, el resultado del análisis exploratorio sobre asociación entre puntaje de virulencia y presentación clínica debe ser tomado con cautela y amerita una mejor exploración en futuros estudios.

8. Conclusiones

Tomando en cuenta los biomarcadores de hipervirulencia, 1.1% de las secuencias de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa en Sudamérica podrían ser hipervirulentas. Se encontró una frecuencia global de determinantes de virulencia mucho menor en comparación con cepas de Asia y Europa. La identificación de secuenciotipos de alto riesgo como ST11, ST258 y ST437 subraya la necesidad urgente de vigilancia genómica en la región. Asimismo, se ha observado que los puntajes de virulencia de 0 y 1 se asociaron una mayor invasividad y mortalidad que los puntajes de virulencia de 2 y 3. Estos hallazgos refuerzan la importancia de

fortalecer la investigación epidemiológica-genómica en la región y mejorar la comprensión del rol de determinantes de virulencia en la presentación clínica de KpRC.

9. Recomendaciones

Para abordar efectivamente el desafío presentado por la prevalencia de cepas de CR-hvKp, se vuelve mejorar los esfuerzos en vigilancia genómica a nivel regional. Esto nos permitiría detectar de manera anticipada secuenciotipos de alto riesgo como ST11, ST258 y ST437 en regiones que todavía no son afectadas e identificar la aparición de nuevos linajes de alto riesgo. Además, es se debe fomentar la cooperación entre los países sudamericanos, especialmente centrar los esfuerzos en los países menos representados en estudios previos, como Ecuador, Bolivia, Paraguay y Venezuela. Asimismo, es esencial desarrollar criterios para el reporte de metainformación vinculada a secuencias genómicas. La estandarización mejoraría los estudios epidemiológicos con información públicamente disponible. Se debe continuar profundizando en la investigación de los determinantes de virulencia, lo cual es clave para entender mejor su impacto en la presentación clínica de las infecciones. Esto, a su vez, tendría un impacto en la práctica clínica, ya que permitiría identificar qué linajes pueden causar infecciones invasivas y cuáles no. Al integrar los perfiles de resistencia y virulencia en la toma de decisiones clínicas, se podría tener un manejo clínico más preciso que se basa en las características genéticas de los linajes de *K. pneumoniae* aislados en los pacientes.

10. Referencias bibliográficas

1. Shrivastava SR, Shrivastava PS, Ramasamy J. World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. *JMS - J Med Soc.* 2018;32(1):76-7.
2. Sanchez J. Alerta Epidemiológica: Diseminación de Carbapenemasas en *Klebsiella pneumoniae* en Latinoamérica. Pan American Health Organization / World Health Organization. 2020. https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=3138:2010-epidemiological-alert-carbapenemases-latin-america-2-july-2010&Itemid=42346&lang=es
3. CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019. DOI : <http://dx.doi.org/10.15620/cdc:82532>.
4. *Klebsiella* species: guidance, data and analysis. GOV.UK. Reino Unido. 2020. <https://www.gov.uk/government/collections/klebsiella-species-guidance-data-and-analysis>
5. Paczosa MK, Meccas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2016;80(3):629-661. doi:10.1128/MMBR.00078-15
6. Lam, M.M.C., Wick, R.R., Watts, S.C. *et al.* A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nat Commun* 12, 4188 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24448-3>

7. Chen, L.; Mathema, B.; Chavda, K.D.; DeLeo, F.R.; Bonomo, R.A.; Kreiswirth, B.N. Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Molecular and Genetic Decoding. *Trends Microbiol.* 2014, 22, 686–696
8. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, Alberti S, Bush K, Tenover FC. 2001. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1151–1161. 10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001
9. Hansen GT. Continuous Evolution: Perspective on the Epidemiology of Carbapenemase Resistance Among Enterobacterales and Other Gram-Negative Bacteria. *Infect Dis Ther.* 2021;10(1):75-92. doi:10.1007/s40121-020-00395-2
10. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: the impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis.* 2017;215(suppl_1):S28–36. 10.1093/infdis/jiw282 [PMC free article] [PubMed][CrossRef] []
11. Angles-Yanqui E, Huaranga-Marcelo J, Sacsquispe-Contreras R, Pampa-Espinoza L. Panorama de las carbapenemasas en Perú. *Rev Panam Salud Publica.* 2020;44:e61. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.61>
12. Sacsquispe-Contreras R, Bailón-Calderón H. Identificación de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de hospitales de Perú, 2013-2017 [Identification of carbapenem-resistant genes in enterobacteria from peruvian hospitals, 2013-2017]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2018;35(2):259-264. doi:10.17843/rpmesp.25Y.25v25i.3474

13. Fang CT, Chuang YP, Shun CT, Chang SC, Wang JT. A Novel Virulence Gene in *Klebsiella pneumoniae* Strains Causing Primary Liver Abscess and Septic Metastatic Complications. *J Exp Med.* 2004;199(5):697-705. DOI: 10.1084/jem.20030857
14. Shi, Q., Lan, P., Huang, D. et al. Diversity of virulence level phenotype of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from different sequence type lineage. *BMC Microbiol* 18, 94 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1236-2>
15. Yeh KM, Kurup A, Siu LK et al. Capsular serotype K1 or K2, rather than magA and rmpA, is a major virulence determinant for *Klebsiella pneumoniae* liver abscess in Singapore and Taiwan. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 466–71.
16. Wei DD, Xiong XS, Mei YF, Du FL, Wan LG, Liu Y. Microbiological and Clinical Characteristics of *Klebsiella pneumoniae* Isolates of K57 Capsular Serotype in China. *Microb Drug Resist.* 2021;27(3):391-400. doi:10.1089/mdr.2018.0456
17. McCallum KL, Whitfield C. The rcsA gene of *Klebsiella pneumoniae* O1:K20 is involved in expression of the serotype-specific K (capsular) antigen. *Infect Immun.* 1991;59(2):494-502. doi:10.1128/iai.59.2.494-502.1991
18. Wei T, Zou C, Qin J, et al. Emergence of Hypervirulent ST11-K64 *Klebsiella pneumoniae* Poses a Serious Clinical Threat in Older Patients. *Front Public Health.* 2022;10:765624. Published 2022 Mar 4. doi:10.3389/fpubh.2022.765624

19. Kamerling JP, Lindberg B, Lonngren J, Nimmich W. Structural studies of the *Klebsiella* type 57 capsular polysaccharide. *Acta Chem Scand B* 1975; 29: 593–8.
20. Wang L, Shen D, Wu H, Ma Y. Resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* to both intracellular and extracellular killing of neutrophils. *PLOS ONE* 2017; 12: e0173638.
21. Yeh, K. M., F. Y. Chang, C. P. Fung, J. C. Lin, and L. K. Siu.. *magA* is not a specific virulence gene for *Klebsiella pneumoniae* strains causing liver abscess but is part of the capsular polysaccharide gene cluster of *K.pneumoniae* serotype K1. *J. Med. Microbiol.* 2006. 55:803–804
22. De Majumdar S, Yu J, Fookes M, McAteer SP, Llobet E, Finn S, Spence S, Monaghan A, Kissenpfennig A, Ingram RJ, Bengoechea J, Gally DL, Fanning S, Elborn JS, Schneiders T. 2015. Elucidation of the RamA regulon in *Klebsiella pneumoniae* reveals a role in LPS regulation. *PLOS Pathog* 11:e1004627. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004627>.
23. Hsieh PF, Lin TL, Lee CZ, Tsai SF, Wang JT. 2008. Serum-induced iron-acquisition systems and TonB contribute to virulence in *Klebsiella pneumoniae* causing primary pyogenic liver abscess. *J Infect Dis* 197: 1717–1727. <http://dx.doi.org/10.1086/588383>.
24. Brock JH, Williams PH, Liceaga J, Wooldridge KG. 1991. Relative availability of transferrin-bound iron and cell-derived iron to aerobac- tin-producing and enterochelin-producing strains of *Escherichia coli* and to other microorganisms. *Infect Immun* 59:3185–3190.

25. Lai YC, Peng HL, Chang HY. Identification of genes induced in vivo during *Klebsiella pneumoniae* CG43 infection. *Infect Immun*. 2001. 69: 7140–7145. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.69.11.7140-7145.2001>.
26. Cowland JB, Borregaard N. 1997. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics* 45:17–23. <http://dx.doi.org/10.1006/geno.1997.4896>.
27. Bachman MA, Oyler JE, Burns SH, Caza M, Lepine F, Dozois CM, Weiser JN. 2011. *Klebsiella pneumoniae* yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. *Infect Immun* 79: 3309–3316. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.05114-11>
28. Lawlor MS, O'Connor C, Miller VL. Yersiniabactin is a virulence factor for *Klebsiella pneumoniae* during pulmonary infection. *Infect Immun*. 2007.75:1463–1472. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00372-06>.
29. Fischbach MA, Lin H, Liu DR, Walsh CT. In vitro characterization of IroB, a pathogen-associated C-glycosyltransferase. *PNAS*. 2005. 102:571–576. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0408463102>.
30. Müller S, Valdebenito M, Hantke K. Salmochelin, the long overlooked catecholate siderophore of Salmonella. *Biometals*. 2009. 22:691–695. <http://dx.doi.org/10.1007/s10534-009-9217-4>.
31. Russo TA, Olson R, Macdonald U, et al. Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun*. 2014;82(6):2356-2367. doi:10.1128/IAI.01667-13

32. Russo TA, Olson R, Fang CT, Stoesser N, Miller M, MacDonald U, Hutson A, Barker JH, La Hoz RM, Johnson JR. 2018. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 56:e00776-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00776-18>.
33. Russo TA, MacDonald U. The *Galleria mellonella* Infection Model Does Not Accurately Differentiate between Hypervirulent and Classical *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere*. 2020. ;5(1):e00850-19. Published 2020 Jan 8. doi:10.1128/mSphere.00850-19
34. Chen Y, Marimuthu K, Teo J, et al. Acquisition of Plasmid with Carbapenem-Resistance Gene bla_{KPC2} in Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, Singapore. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(3):549-559. doi:10.3201/eid2603.191230
35. Wyres, K.L., Nguyen, T.N.T., Lam, M.M.C. et al. Genomic surveillance for hypervirulence and multi-drug resistance in invasive *Klebsiella pneumoniae* from South and Southeast Asia. *Genome Med* 12. 2020. <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0706-y>
36. Zhang Y, Jin L, Ouyang P, et al. Evolution of hypervirulence in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China: a multicentre, molecular epidemiological analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(2):327-336. doi:10.1093/jac/dkz446
37. Lee IR, Molton JS, Wyres KL, et al. Differential host susceptibility and bacterial virulence factors driving *Klebsiella* liver abscess in an ethnically diverse population. *Sci Rep*. 2016 Jul 13;6:29316.

38. Zhang Y, Jin L, Ouyang P, et al. Evolution of hypervirulence in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China: a multicentre, molecular epidemiological analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(2):327-336. doi:10.1093/jac/dkz446
39. Zamani A, Yousefi Mashouf R, Ebrahimzadeh Namvar AM, Alikhani MY. Detection of magA Gene in *Klebsiella* spp. Isolated from Clinical Samples. *Detection of magA. Iran J Basic Med Sci.* 2013;16(2):173-176.
40. Ko WC, Paterson DL, Sagnimeni AJ, et al. Community-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: global differences in clinical patterns. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(2):160-166. doi:10.3201/eid0802.010025
41. Lee HC, Chuang YC, Yu WL et al. Clinical implications of hypermucoviscosity phenotype in *Klebsiella pneumoniae* isolates: association with invasive syndrome in patients with community-acquired bacteraemia. *J Intern Med* 2006; 259: 606–14. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2006.01641.x
42. *Klebsiella* species: guidance, data and analysis. GOV.UK. Reino Unido. 2020. <https://www.gov.uk/government/collections/klebsiella-species-guidance-data-and-analysis>
43. Lee CR, Lee JH, Park KS, et al. Antimicrobial Resistance of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Hypervirulence-Associated Determinants, and Resistance Mechanisms. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:483. 2017. doi:10.3389/fcimb.2017.00483
44. Yao, B., Xiao, X., Wang, F., Zhou, L., Zhang, X., and Zhang, J. Clinical and molecular characteristics of multi-clone carbapenem-resistant hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary hospital in

- Beijing. China. *Int. J. Infect. Dis.* 37, 107–112. 2015. DOI: 10.1016/j.ijid.2015.06.023
45. Zhang, Y., Zeng, J., Liu, W., Zhao, F., Hu, Z., Zhao, C., et al. Emergence of a hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate from clinical infections in China. *J. Infect.* 71, 553–560. 2015. DOI: 10.1016/j.jinf.2015.07.010
46. Zhan, L., Wang, S., Guo, Y., Jin, Y., Duan, J., Hao, Z., et al. Outbreak by Hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* ST11 Isolates with Carbapenem Resistance in a Tertiary Hospital in China. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7:182. 2017 DOI: 10.3389/fcimb.2017.00182
47. Gu, D., Dong, N., Zheng, Z., Lin, D., Huang, M., Wang, L., et al. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *Lancet Infect. Dis.* 2017. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30489-9.
48. Tian C, Shi Y, Ren L, et al. Emergence of IS26-mediated pLVPK-like virulence and NDM-1 conjugative fusion plasmid in hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Genet Evol.* 2023;113:105471. doi:10.1016/j.meegid.2023.105471
49. Beyrouthy R, Dalmaso G, Birer A, et al. Carbapenem Resistance Conferred by OXA-48 in K2-ST86 Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, France. *Emerging Infectious Diseases.* 2020;26(7):1529-1533. doi:10.3201/eid2607.191490.
50. Scaltriti E, Piccinelli G, Corbellini S, Caruso A, Latronico N, De Francesco MA. Detection of a hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* co-producing NDM-5 and OXA-48 carbapenemases with sequence type 383, Brescia,

- Italy. Int J Antimicrob Agents. 2020;56(4):106130.
doi:10.1016/j.ijantimicag.2020
51. Pereira S.C.L., Vanetti M.C.D.. Potential virulence of *Klebsiella* sp. isolates from enteral diets. Braz J Med Biol Res. 2015. 48(9): 782-789.
<https://doi.org/10.1590/1414-431x20154316>.
52. Leonardo Neves Andrade, Lúcia Vitali et al. Expansion and Evolution of a Virulent, Extensively Drug-Resistant (Polymyxin B-Resistant), QnrS1-, CTX-M-2-, and KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 International High-Risk Clone. Journal of Clinical Microbiology Jun 2014, 52 (7) 2530-2535; DOI: 10.1128/JCM.00088-14
53. Vargas, JM. Moreno Mochi MP. Factores de virulencia y patrones clínicos de múltiples clones de *Klebsiella pneumoniae* hipermucoviscosos productores de KPC-2. . Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nacional de Tucumán. 2018
54. Jorge Velásquez, et al. *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenemes. Primer caso de carbapenemasa tipo KPC en Perú. Reporte de caso. Rev Soc Peru Med Interna 2013; vol 26
55. Wyres, K.L., Nguyen, T.N.T., Lam, M.M.C. et al. Genomic surveillance for hypervirulence and multi-drug resistance in invasive *Klebsiella pneumoniae* from South and Southeast Asia. Genome Med 12. 2020.
<https://doi.org/10.1186/s13073-019-0706-y>
56. Zhang Y, Jin L, Ouyang P, et al. Evolution of hypervirulence in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China: a multicentre, molecular

- epidemiological analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(2):327-336.
doi:10.1093/jac/dkz446
57. Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien KK, Colquhoun H, Levac D, et al. PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation. *Ann Intern Med* 2018;169(7): 467–73.
58. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, Shekelle P, Stewart LA, PRISMA-P Group. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews.* 2015; 4(1): 1-9. doi: 10.1186/2046-4053-4-1
59. Gade, D. W. , Minkel, . C.W. , Avila, et al. Gino (citado 3 de Agosto 2023). *South America. Encyclopedia Britannica.*
<https://www.britannica.com/place/South-America>
60. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Internet]. National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information [citado 18 agosto 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
61. SciELO Chile [Internet]. Santiago: SciELO; 2023 [citado 18 de Agosto 2023]. Disponible en: <https://www.scielo.cl/scielo.php?lng=es>
62. LILACS - Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud [Internet]. São Paulo: BIREME; 2023 [citado 18 de Agosto 2023]. Disponible en: <https://lilacs.bvsalud.org/es/>
63. NCBI Pathogen Isolates Browser [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information; 2023 [citado 18 de Agosto 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/isolates/>

64. Krapp F, Amaro C, Ocampo K, et al. 1189. A Comprehensive Characterization of the Emerging Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates From a Public Hospital in Lima, Peru. *Open Forum Infect Dis.* 2018;5(Suppl 1):S359-S360. Published 2018 Nov 26. doi:10.1093/ofid/ofy210.1022
65. Krapp F, García C, Hinostroza N, et al. Prevalence of Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Bacteria Bloodstream Infections in Peru and Associated Outcomes: VIRAPERU Study [published online ahead of print, 2023 Sep 18]. *Am J Trop Med Hyg.* 2023;tpmd220556. doi:10.4269/ajtmh.22-0556
66. Pathogen Watch Team. Pathogen Watch: Monitoring and Tracking Infectious Diseases. pathogen.watch. [citado 18 de Agosto 2023], Disponible en: pathogen.watch.
67. Lam, M.M.C., Wick, R.R., Watts, S.C. et al. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nat Commun* 12, 4188 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24448-3>
68. Leinonen R, Akhtar R, Birney E, et al. The European Nucleotide Archive. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(Database issue):D28-D31. doi:10.1093/nar/gkq967
69. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI supplement M100. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2021.

70. National Center for Biotechnology Information. Medical Subject Headings (MeSH): Mortality - C68009026. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68009026>. Octubre 2023.
71. National Center for Biotechnology Information. Medical Subject Headings (MeSH): Comorbidity. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=comorbidity>. Octubre 2023.
72. Scelfo C, Menzella F, Fontana M, Ghidoni G, Galeone C, Facciolongo NC. Pneumonia and Invasive Pneumococcal Diseases: The Role of Pneumococcal Conjugate Vaccine in the Era of Multi-Drug Resistance. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(5):420. Published 2021 Apr 22. doi:10.3390/vaccines9050420
73. Zegarra Piérola Jaime, Fernández Merjildo Diana, Cosme Avila Samuel, Ticona Salazar José. Absceso hepático, bacteriemia y meningoencefalitis por *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta en el curso de infección por SARS - CoV2. Reporte de caso. *Rev Med Hered [Internet]*. 2021 Jul [citado 2023 Oct 11] ; 32(4): 239-245. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2021000400239&lng=es. Epub 19-Ene-2022. <http://dx.doi.org/10.20453/rmh.v32i4.4121>.
74. Lapidus Martín Ignacio, Altavista Melisa, Gornatti Marco, Falcón André, Alonso Serena Marina, Bonella María Belén. Síndrome de absceso hepático invasor por *Klebsiella pneumoniae*, serie de casos. *Rev. chil. infectol. [Internet]*. 2020 Nov [citado 2023 Oct 11] ; 37(5): 566-569. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-

10182020000500566&lng=es.

<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182020000500566>.

75. Zhao L, Xia X, Yuan T, Zhu J, Shen Z, Li M. Molecular Epidemiology of Antimicrobial Resistance, Virulence and Capsular Serotypes of Carbapenemase-Carrying *Klebsiella pneumoniae* in China. *Antibiotics (Basel)*. 2022;11(8):1100. Published 2022 Aug 13. doi:10.3390/antibiotics11081100
76. Jati AP, Sola-Campoy PJ, Bosch T, et al. Widespread Detection of Yersiniabactin Gene Cluster and Its Encoding Integrative Conjugative Elements (ICEKp) among Nonoutbreak OXA-48-Producing *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates from Spain and the Netherlands. *Microbiol Spectr*. 2023;11(4):e0471622. doi:10.1128/spectrum.04716-22
77. Shankar C, Basu S, Lal B, et al. Aerobactin Seems To Be a Promising Marker Compared With Unstable RmpA2 for the Identification of Hypervirulent Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: *In Silico* and *In Vitro* Evidence. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:709681. Published 2021 Sep 13. doi:10.3389/fcimb.2021.709681
78. Bhatia M, Shamanna V, Nagaraj G, et al. Molecular characterisation of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates: preliminary experience from a tertiary care teaching hospital in the Himalayas. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2022;116(7):655-662. doi:10.1093/trstmh/tra189
79. Horváth M, Kovács T, Kun J, et al. Virulence Characteristics and Molecular Typing of Carbapenem-Resistant ST15 *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates, Possessing the K24 Capsular Type. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(3):479. Published 2023 Feb 28. doi:10.3390/antibiotics12030479

80. Fasciana T, Gentile B, Aquilina M, et al. Co-existence of virulence factors and antibiotic resistance in new *Klebsiella pneumoniae* clones emerging in south of Italy. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):928. Published 2019 Nov 4. doi:10.1186/s12879-019-4565-3
81. Dong N, Zhang R, Liu L, et al. Genome analysis of clinical multilocus sequence Type 11 *Klebsiella pneumoniae* from China. *Microb Genom.* 2018;4(2):e000149. doi:10.1099/mgen.0.000149
82. Solgi H, Shahcheraghi F, Bolourchi N, Ahmadi A. Molecular characterization of carbapenem-resistant serotype K1 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ST11 harbouring bla_{NDM-1} and bla_{OXA-48} carbapenemases in Iran. *Microb Pathog.* 2020;149:104507. doi:10.1016/j.micpath.2020.104507
83. Yu F, Lv J, Niu S, et al. Multiplex PCR Analysis for Rapid Detection of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenem-Resistant (Sequence Type 258 [ST258] and ST11) and Hypervirulent (ST23, ST65, ST86, and ST375) Strains. *J Clin Microbiol.* 2018;56(9):e00731-18. Published 2018 Aug 27. doi:10.1128/JCM.00731-18
84. Field D, Garrity G, Gray T, et al. The minimum information about a genome sequence (MIGS) specification. *Nat Biotechnol.* 2008;26(5):541-547. doi:10.1038/nbt1360
85. Canham S, Ohmann C. A metadata schema for data objects in clinical research. *Trials.* 2016;17(1):557. Published 2016 Nov 24. doi:10.1186/s13063-016-1686-5
86. Banzi R, Canham S, Kuchinke W, Krleza-Jeric K, Demotes-Mainard J, Ohmann C. Evaluation of repositories for sharing individual-participant data from

- clinical studies. *Trials*. 2019;20(1):169. Published 2019 Mar 15.
doi:10.1186/s13063-019-3253-3
87. Li Y, Li J, Hu T, Hu J, Song N, Zhang Y, Chen Y. 2020. Five-year change of prevalence and risk factors for infection and mortality of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in a tertiary hospital in North China. *Antimicrob Resist Infect Control* 9:79. doi: 10.1186/s13756-020-00728-3
88. Maraolo AE, Corcione S, Grossi A, Signori A, Alicino C, Hussein K et al. 2021. The impact of carbapenem resistance on mortality in patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: an individual patient data meta-analysis of 1952 patients. *Infect Dis Ther* 10:541–558. doi: 10.1007/s40121-021-00408-8
89. Zhang S, Yang Z, Sun L, Wang Z, Sun L, Xu J, Zeng L, Sun T. 2020. Clinical observation and prognostic analysis of patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection. *Front Cell Infect Microbiol* 10:577244. doi: 10.3389/fcimb.2020.577244.
90. Kim D, Park BY, Choi MH, et al. Antimicrobial resistance and virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* affecting 30 day mortality in patients with bloodstream infection. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(1):190-199. doi:10.1093/jac/dky397
91. Li J, Ren J, Wang W, et al. Risk factors and clinical outcomes of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* induced bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(4):679-689. doi:10.1007/s10096-017-3160-z

92. Wu X, Shi Q, Shen S, Huang C, Wu H. Clinical and Bacterial Characteristics of *Klebsiella pneumoniae* Affecting 30-Day Mortality in Patients With Bloodstream Infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:688989. Published 2021 Sep 16. doi:10.3389/fcimb.2021.688989
93. Roach DJ, Sridhar S, Oliver E, et al. Clinical and genomic characterization of a cohort of patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection [published online ahead of print, 2023 Aug 26]. *Clin Infect Dis.* 2023;ciad507. doi:10.1093/cid/ciad507
94. Micek ST, Hampton N, Kollef M. Risk Factors and Outcomes for Ineffective Empiric Treatment of Sepsis Caused by Gram-Negative Pathogens: Stratification by Onset of Infection [published correction appears in *Antimicrob Agents Chemother.* 2018 Feb 23;62(3):]. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;62(1):e01577-17. Published 2017 Dec 21. doi:10.1128/AAC.01577-17
95. Aida Oliveros Navarro, Natalí Uribe, Patricia Sierra, Fabián Jaimes, Javier Mauricio González. Bacteriemia por enterobacterias resistentes a carbapenems. Un estudio transversal. *Infectio.* Volumen 19. 2015. Página 60-66. ISSN 0123-9392. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2014.11.006>.
96. Kim D, Park BY, Choi MH, Yoon EJ, Lee H, Lee KJ, Park YS, Shin JH, Uh Y, Shin KS, Shin JH, Kim YA, Jeong SH. Antimicrobial resistance and virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* affecting 30 day mortality in patients with bloodstream infection. *J Antimicrob Chemother.* 2019 Jan 1;74(1):190-199. doi: 10.1093/jac/dky397. PMID: 30295771.

97. Remya PA, Shanthi M, Sekar U. Characterisation of virulence genes associated with pathogenicity in *Klebsiella pneumoniae*. *Indian J Med Microbiol*. 2019;37(2):210-218. doi:10.4103/ijmm.IJMM_19_157
98. Joseph L, Merciecca T, Forestier C, Balestrino D, Miquel S. From *Klebsiella pneumoniae* Colonization to Dissemination: An Overview of Studies Implementing Murine Models. *Microorganisms*. 2021;9(6):1282. Published 2021 Jun 12. doi:10.3390/microorganisms9061282
99. Russo TA, Olson R, Fang CT, et al. Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K. pneumoniae*. *J Clin Microbiol*. 2018;56(9):e00776-18. Published 2018 Aug 27. doi:10.1128/JCM.00776-18
100. Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(3):e00001-19. Published 2019 May 15. doi:10.1128/CMR.00001-19
101. Sanikhani R, Moeinirad M, Shahcheraghi F, et al. Molecular epidemiology of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a systematic review and meta-analysis. *Iran J Microbiol*. 2021;13(3):257-265. doi:10.18502/ijm.v13i3.6384
102. Andrews, S. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Internet]. Babraham Bioinformatics, Babraham Institute; Available from: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>

11. Apéndice

Figura 1: Flujograma de búsqueda de artículos originales que reportaron secuenciamiento genómico completo de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémico.

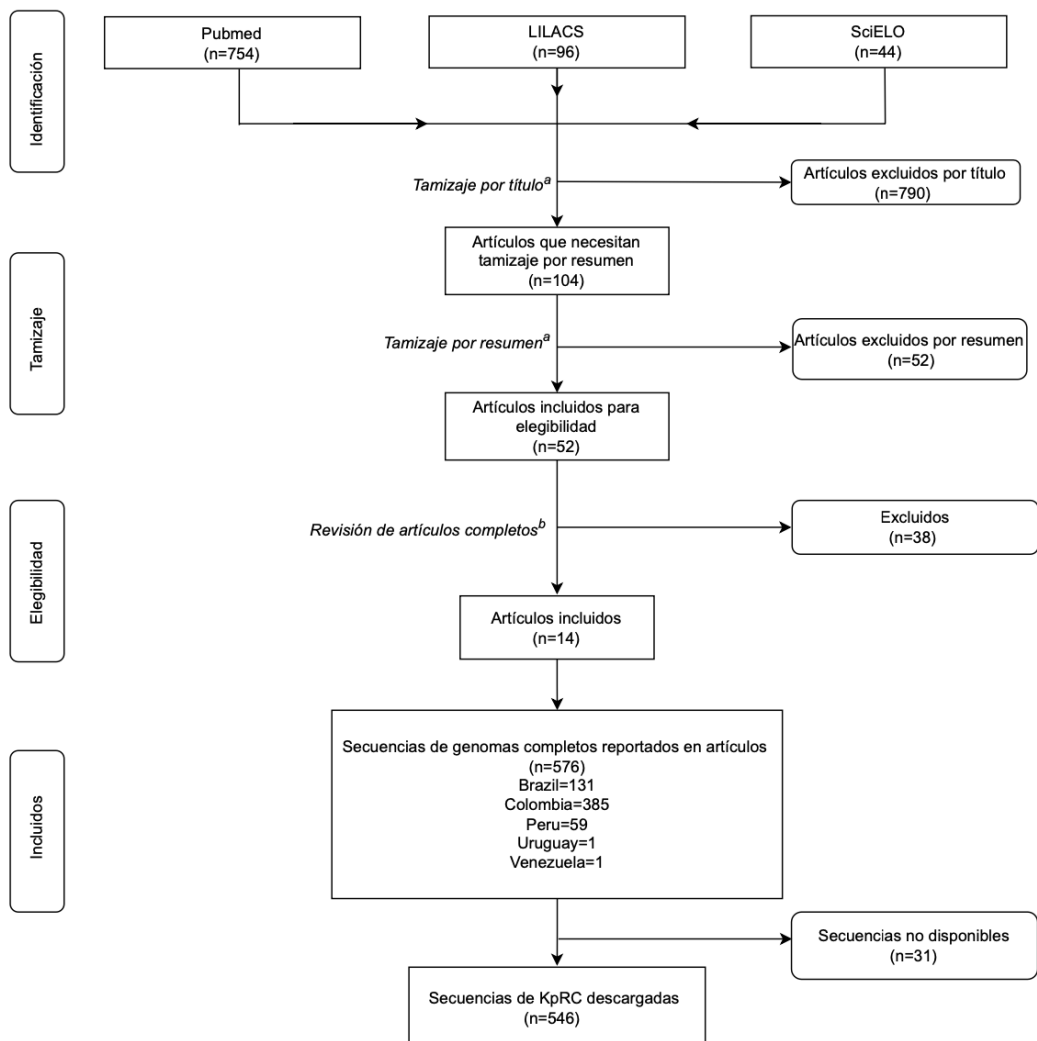


Figura 2: Búsqueda de secuencias genómicas de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasa en el buscador del NCBI *Isolates Browser*.

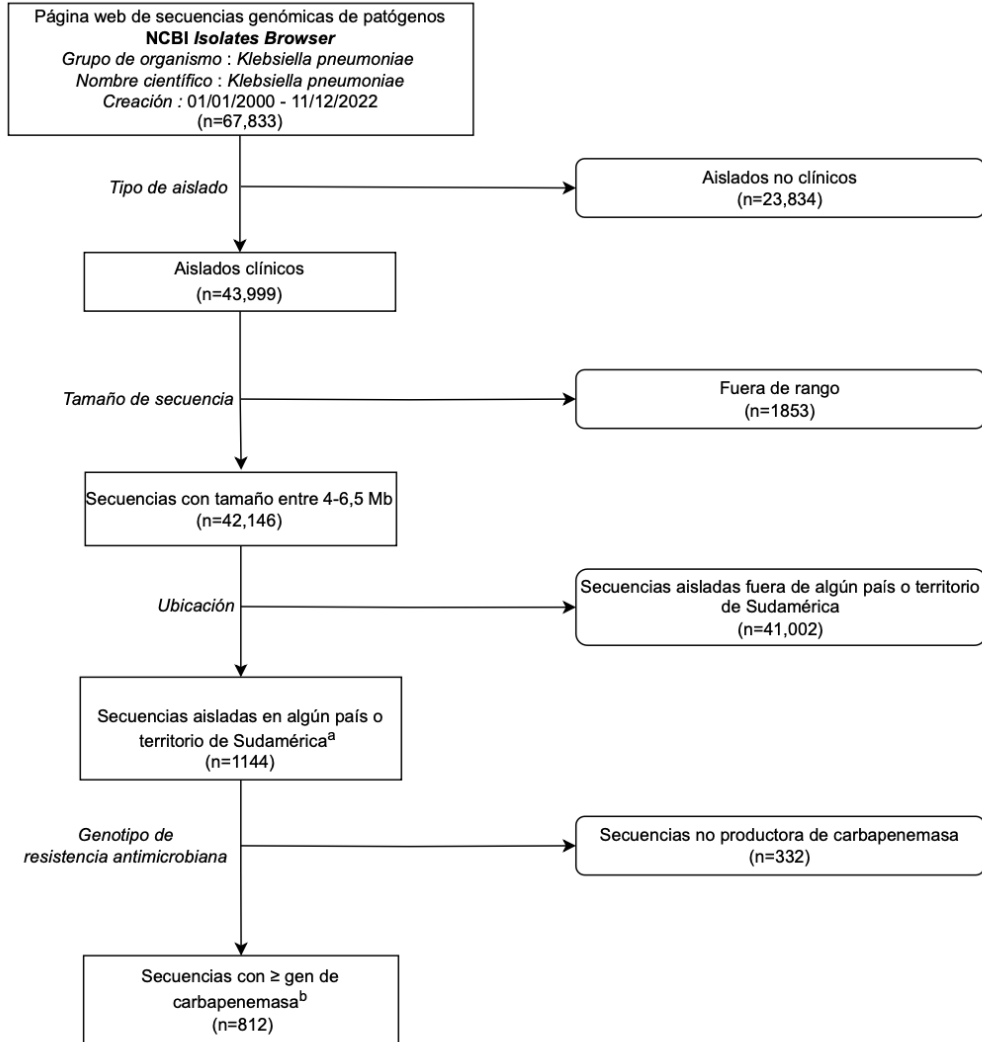


Figura 3: Flujograma de control de calidad e inclusión de secuencias genómicas de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasa entre 2000 y 2021.

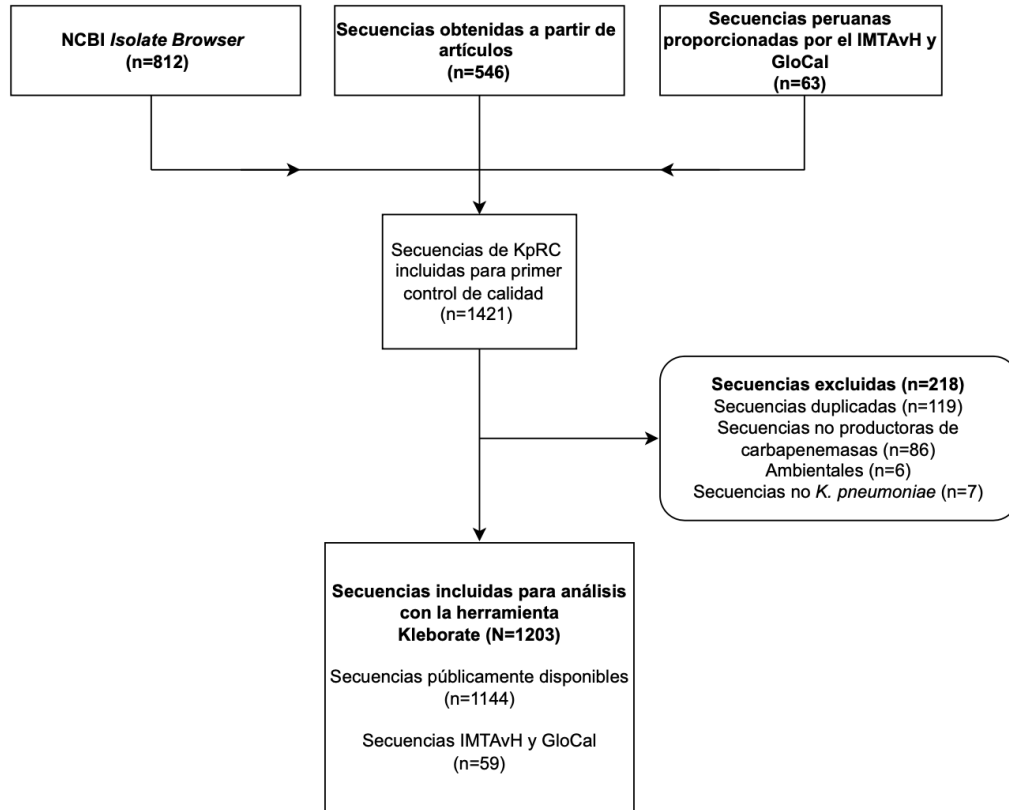


Figura 4: Frecuencia de secuencias genómicas de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemas entre 2000 y 2022 de Sudamérica por país y clase de carbapenemasa (n=1144).

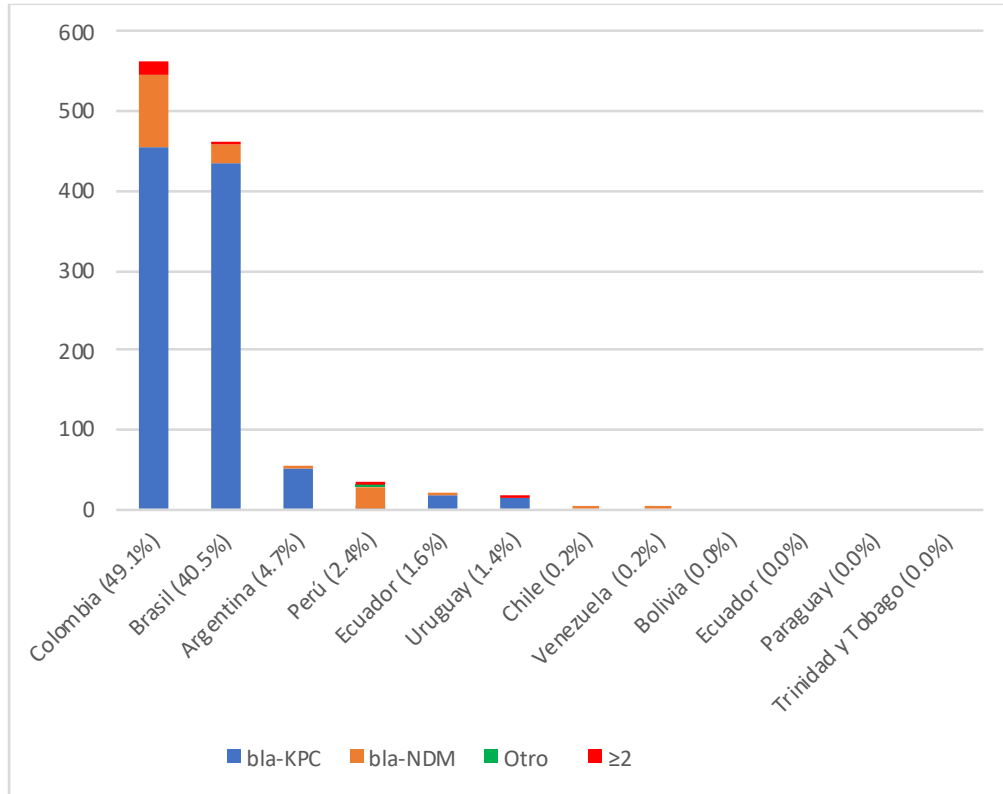


Figura 5: Secuenciotipos más comunes encontrados en los genomas completos de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasas recolectados en Sudamérica entre 2000 y 2021.

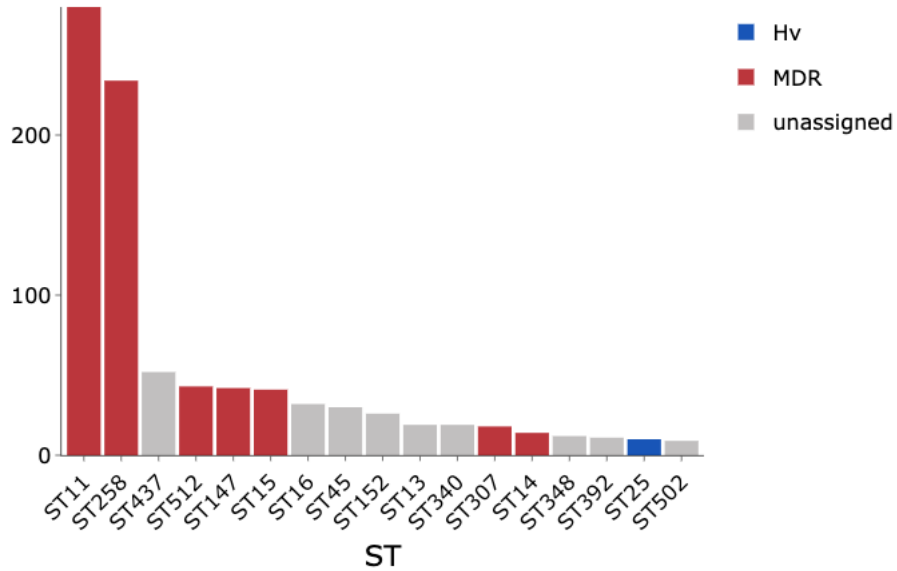


Figura 6: Proporciones de puntaje de virulencia según año de aislamiento de aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasa de Sudamérica entre 2000 y 2021.

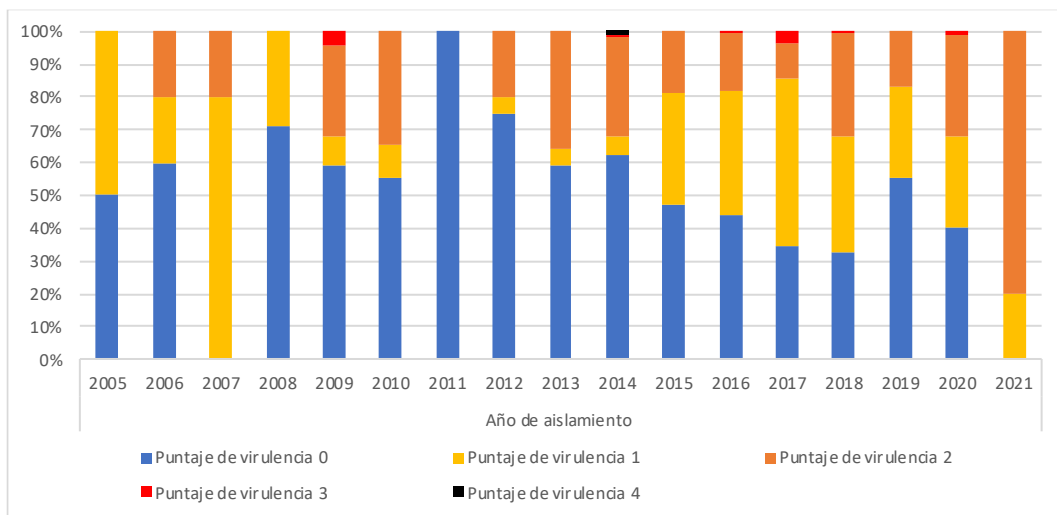


Tabla 1. Frecuencia de metainformación asociada con las secuencias de genomas de aislados clínicos de *K. pneumoniae* productores de carbapenemasas públicamente disponibles de Sudamérica entre 2000-2021.

Metainformación	Total	Secuencias públicamente disponibles	Secuencias IMTAvH
	N=1203 n (%)	N=1144 n (%)	N=59 n (%)
Sexo	513 (42.6)	454 (39.7)	59 (100.0)
<i>Masculino</i>	312 (60.8)	269 (59.3)	43 (72.9)
<i>Femenino</i>	201 (39.2)	185 (40.7)	16 (27.1)
Edad	499 (41.5)	444 (38.8)	55 (93.2)
Presentación clínica			
Enfermedad actual/Comorbilidad	383 (31.8)	364 (31.8)	19 (32.2)
Transplantado	80 (20.9)	80 (22.0)	0 (0.0)
Bacteremia/sepsis	74 (19.3)	70 (19.2)	4 (21.1)
COVID-19	28 (7.3)	28 (7.7)	0 (0.0)
Mortalidad	123 (10.2)	92 (8.0)	31 (52.4)
<i>Vivo</i>	83 (67.5)	64 (69.6)	19 (61.3)
<i>Fallecido</i>	40 (32.5)	28 (30.4)	12 (38.7)
Sitio de toma de muestra			
Desconocidos	176 (14.6)	176 (15.4)	0 (0.0)
Sangre	379 (31.5)	358 (31.3)	21 (35.6)
Orina	262 (21.8)	246 (21.5)	16 (27.1)
Respiratorio	96 (8.0)	90 (7.9)	13 (22.0)
Heces o hispados rectales	96 (8.0)	83 (7.3)	6 (10.2)
Hueso o tejidos blandos	65 (5.4)	65 (5.7)	0 (0.0)
Abdominal	64 (5.3)	63 (5.5)	1 (1.7)
Secreciones	26 (2.2)	25 (2.2)	1 (1.7)
Catéteres	22 (1.8)	22 (1.9)	0 (0.0)
Sistema nervioso central	6 (0.5)	6 (0.5)	0 (0.0)
Pleural	6 (0.5)	5 (0.4)	1 (1.7)
Otros	5 (0.4)	5 (0.4)	0 (0.0)

Tabla 2: Frecuencia de gen carbapenemasas por país de las secuencias de genomas completos de aislados clínicos de *K. pneumoniae* productores de carbapenemasas recolectados en Sudamérica entre 2000 y 2021.

País	Total N	Carbapenemasa			
		<i>bla</i> -KPC n (%)	<i>bla</i> -NDM n (%)	Otros n (%)	≥2 n (%)
Colombia	562	456 (81.1)	67 (11.9)	21 (3.7)	18 (3.2)
Brasil	463	433 (93.5)	25 (5.4)	1 (0.2)	4 (0.9)
Perú	86	7 (8.1)	69 (80.2)	9 (10.5)	1 (1.2)
Argentina	54	52 (96.3)	0 (0.0)	2 (3.7)	0 (0.0)
Ecuador	18	17 (94.4)	1 (5.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
Uruguay	16	14 (87.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (12.5)
Chile	2	0 (0.0)	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Venezuela	2	0 (100.0)	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	1203	979 (81.4)	166 (13.8)	33 (2.7)	25 (2.1)

Tabla 3: Frecuencias de los determinantes genómicos de virulencia encontrados en las secuencias de genomas completos de aislados clínicos de *K. pneumoniae* productores de carbapenemasas recolectados en Sudamérica entre 2000 y 2021.

Determinante de virulencia	Total N=1203 n (%)
Sideróforos	
Yersiniabactina	641 (53.2)
Colibactina	298 (24.7)
Aerobactina	13 (1.1)
Salmoquelina	1 (0.1)
<i>omp</i>*	
<i>ompA/A2</i>	0 (0.0)
<i>ompADC</i>	1 (0.1)
Serotipo capsular**	
K1	1 (0.1)
K2	27 (2.2)
K5	0 (0.0)
K20	0 (0.0)
K57	0 (0.0)
K64	168 (13.9)
Puntaje de virulencia	
0	551 (45.8)
1	342 (28.4)
2	298 (24.7)
3	11 (0.9)
4	2 (0.2)
5	0 (0.0)

*regulador del fenotipo mucoide

**Serotipo capsular asociado a hipervirulencia en la literatura

Tabla 4: Asociación entre presencia de determinantes genético de virulencia e invasividad de la infección con análisis de Chi-cuadrado en secuencias de aislados clínicos de *K. pneumoniae* productores de carbapenemasas de Sudamérica entre 2000 y 2021.

Determinante de virulencia	Enfermedad no invasiva^a N=402 n (%)	Enfermedad invasiva^b N=390 n (%)	Total N=792 n (%)	P
Sideróforo				
Yersiniabactina	239 (59.4)	184 (47.2)	423 (53.4)	<0.001
Colibactina	116 (28.9)	84 (21.6)	200 (25.2)	0.018
Serotipo capsular				
K2	5 (1.2)	7 (1.8)	12 (1.5)	0.526
K64	45 (11.2)	61 (15.6)	106 (13.4)	0.066
Puntaje de virulencia				
0	157 (39.1)	204 (52.3)	361 (46.1)	
1	123 (30.6)	99 (25.4)	222 (28.3)	
2	116 (28.9)	84 (21.6)	200 (25.5)	0.001*
3	5 (1.2)	2 (0.5)	7 (0.9)	
4	1 (0.3)	1 (0.3)	2 (0.3)	

^afuentes de aislamiento; sangre, pleura y sistema nervioso central

^bfuentes de aislamiento; orina, respiratorio y secreciones de infecciones cutáneas

*Cálculo se realizó excluyendo puntaje de virulencia 3 y 4 por tener un n≤5

Tabla 5: Asociación entre la presencia de determinantes genéticos de virulencia y mortalidad con análisis de Chi-cuadrado en los aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* productores de carbapenemasas de Sudamérica entre 2000 y 2021.

Determinante de virulencia	Vivo N=83 n (%)	Fallecido N=40 n (%)	Total N=123 n (%)	P
Sideróforo				
Yersiniabactina	64 (77.1)	19 (22.9)	83 (67.5)	0.001
Colibactina	40 (78.4)	11 (21.6)	51 (41.5)	0.029
Serotipo capsular				
K2	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
K64	42 (79.2)	11 (20.8)	53 (13.4)	0.015
Puntaje de virulencia				
0	16 (19.3)	20 (50.0)	36 (29.3)	
1	24 (28.9)	8 (20.0)	32 (26.0)	
2	40 (48.2)	11 (27.5)	51 (41.5)	0.001*
3	3 (3.6)	1 (2.5)	4 (3.3)	
4	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	

*Cálculo se realizó excluyendo puntaje de virulencia 3 y 4 por tener un $n \leq 5$

12. ANEXOS

Anexo 1: Cuadro de operacionalización de variables y definiciones:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPOS ESCALA		VALORES
Resistencia a carbapenémicos	Capacidad de una bacteria en sobrevivir al efecto antimicrobiano de al menos 1 carbapenémico. La resistencia a carbapenémicos se puede medir con pruebas de sensibilidad a antibióticos siguiendo la guía del Clinical and Laboratory Standards Institute (69)	Por la naturaleza del estudio, se utilizó la presencia de al menos 1 gen de carbapenemasa en el genoma de la secuencia para considerar resistencia a carbapenémicos.	Categoría	Nominal	0 = No productor de carbapenemasa 1 = Productor de carbapenemasa
Convergencia de hipervirulencia y resistencia antimicrobiana (67)	Lam et al. Propusieron la definición de convergencia de hipervirulencia y resistencia antimicrobiana basándose en una combinación de evaluación de riesgo clínico, sistemas de puntuación estructurados para la virulencia y la resistencia basados en la presencia de determinantes genéticos específicos, análisis estadístico y datos observacionales de análisis genómicos.	Puntaje de virulencia ≥ 3 y puntaje de resistencia ≥ 1	Categoría	Nominal	0=Secuencia sin convergencia 1=secuencia con convergencia

Biomarcador de hipervirulencia	Indicador molecular específico presente en el material genético de un organismo, que se puede utilizar para tamizar si el organismo tiene una virulencia incrementada (99)	Estudios previos han propuesto la aerobactina, salmoquelina, <i>peg-344</i> y <i>rmpA/rmpA2</i> como marcadores >90% sensibles para identificar KpHV (99-101). Cada biomarcador está asociado a un incremento en virulencia y no es necesario la presencia de todos como predictor de hipervirulencia.	Categoría	Nominal	0= secuencia sin biomarcador de hipervirulencia 1=secuencia con biomarcador de hipervirulencia
Determinante de virulencia	Factores genéticos o proteicos específicos que confieren a un microorganismo patógeno la capacidad de causar enfermedades con una severidad, agresividad y rapidez de progresión mucho mayores que las cepas patógenas estándar	Presencia de sideróforos (yersiniabactina y colibactina), serotipos capsulares K1-K2, K57, K64	Categoría	Nominal	0= secuencia sin determinante de virulencia 1=secuencia con determinante de virulencia
Mortalidad	Todas las muertes en una determinada población. (70)	Reporte de los artículos o metainformación sobre la muerte o supervivencia de pacientes a los cuales se le realizó cultivo y aisló <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	Dicotómica	Nominal	0 = vivo 1 = fallecido
Comorbilidad	Coexistencia de una enfermedad adicional con respecto al diagnóstico inicial. (71)	Presencia o ausencia enfermedad reportada en la metainformación de las secuencias sobre enfermedades adicionales a la infección causada por <i>K. pneumoniae</i> .	Dicotómica	Nominal	0 = Sin comorbilidad 1 = comorbilidad asociada
Fuente de aislamiento	Tejido en donde se recolectó una muestra biológica y fue sometida a pruebas de laboratorio con la finalidad de aislar un agente infeccioso.	Fuentes de donde se realizó el aislamiento de un agente infeccioso: sangre, orina, heces e hisopados retales, sistema respiratorio, hueso o infecciones de tejidos blandos, abdominal, secreciones, catéter, pleural, sistema nervioso central, otros, y desconocidos	Categoría	Nominal	1=sangre, 2=orina, 3=heces o hisopado rectal, 4=sistema respiratorio, 5=hueso o infecciones de tejidos blandos, 6=abdominal, 7=secreciones, 8=catéter, 9=pleural, 10=sistema nervioso central 11=otros o desconocidos.
Enfermedad invasiva	Aislado de algún tipo de microorganismo en algún fluido corporal normalmente estéril como sangre, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural o líquido pericárdico. (72)	Se consideró enfermedad invasiva si en la metainformación las secuencias tenían como sitio de aislamiento sangre, sistema nervioso central o líquido proveniente de una serosa.	Categoría	Nominal	0 = Enfermedad no invasiva 1 = Enfermedad invasiva
Enfermedad no invasiva	Aislado de algún tipo de microorganismo en algún fluido corporal no estéril (72)	Se consideró enfermedad no invasiva si en la metainformación las secuencias tenían como sitio de aislamiento orina, secreciones y sistema respiratorio.	Categoría	Nominal	0 = Enfermedad no invasiva 1 = Enfermedad invasiva
Puntaje de virulencia	Resumen de la información genotípica de determinantes de virulencia creado por la herramienta Kleborate que refleja la acumulación de loci de genes de virulencia y su correlación con hipervirulencia. (67)	Puntaje que la presencia o ausencia de los 3 sideróforos más representativos de hipervirulencia ; 0 = ningún sideróforo 1 = solo yersiniabactina 2 = colibactina sin aerobactin (independiente de la presencia de yersinabactina) 3 = solo aerobactina 4 = aerobactina y yersiniabactina (independiente de colibactina) 5 = todos los sideróforos	Categoría	Nominal	0 = ningún sideróforo 1 = yersiniabactina 2 = colibactina con o sin yersiniabactina 3 = aerobactina 4 = aerobactina y yersiniabactina, con o sin colibactina 5 = todos los sideróforos

Puntaje de resistencia	Escala numérica diseñada para evaluar y resumir la presencia de determinantes genéticos que contribuyen a la resistencia antimicrobiana en bacterias (67)	<p>0=no se detecta genotipo de resistencia</p> <p>1=gen productor betalactamasas de espectro extendido presente</p> <p>2=gen de carbapenemasa presente sin resistencia a colistina</p> <p>3=gen de resistencia a colistina presente</p>	Catagórica	Nominal	<p>0=no se detecta genotipo de resistencia</p> <p>1=gen productor betalactamasas de espectro extendido presente</p> <p>2=gen de carbapenemasa presente sin resistencia a colistina</p> <p>3=gen de resistencia a colistina presente</p>