



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
SCIENZE BIOLOGICHE

GENOMICA DELLA SPECIE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
POPULATION GENOMICS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Tesi di Laurea di:
ALESSIA MALTONI

Docente Referente:
Chiar.ma Prof.ssa
CARLA VIGNAROLI

Sessione: Straordinaria (Febbraio 2022)
Anno Accademico: 2020/2021



Riassunto

Wyres *et al.* Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*.
Nature Review of Microbiology, 2020; 18(6):344-359. doi: 10.1038/s41579-019-0315-1.

Klebsiella pneumoniae è una causa comune di infezioni opportunistiche resistenti agli antibiotici nei pazienti ospedalizzati. La specie è naturalmente resistente alle penicilline e i membri della popolazione spesso presentano una resistenza acquisita a più antibiotici. Tuttavia, le conoscenze dell'ecologia, della struttura di popolazione e della patogenicità di *K. pneumoniae* sono relativamente limitate. Nell'ultimo decennio, *K. pneumoniae*, è emersa come una delle principali minacce cliniche e di salute pubblica, a causa della crescente prevalenza di infezioni nosocomiali causate da ceppi multiresistenti, che producono β -lattamasi e/o carbapenemasi ad ampio spettro. Parallelamente alla sua importanza come patogeno ospedaliero, *K. pneumoniae*, è anche responsabile di gravi infezioni contratte in ambito comunitario causate da ceppi "ipervirulenti" in seguito all'acquisizione ed espressione di diversi fattori di virulenza. Queste distinte preoccupazioni cliniche hanno stimolato un rinnovato interesse per lo studio di *K. pneumoniae*, in particolare utilizzando approcci di genomica. Di seguito si discute di come la genomica abbia chiarito aspetti legati alla tassonomia, ecologia ed evoluzione di *K. pneumoniae*, ed abbia permesso lo studio della diversità e della distribuzione dei determinanti clinicamente rilevanti di patogenicità e di resistenza agli antibiotici. Una comprensione più profonda della struttura e diversità di popolazione della *K. pneumoniae* saranno importanti per la corretta progettazione ed interpretazione di studi sperimentali, per l'analisi dei dati di sorveglianza clinica e di salute pubblica e per delineare e applicare nuove strategie di controllo contro questo importante patogeno.



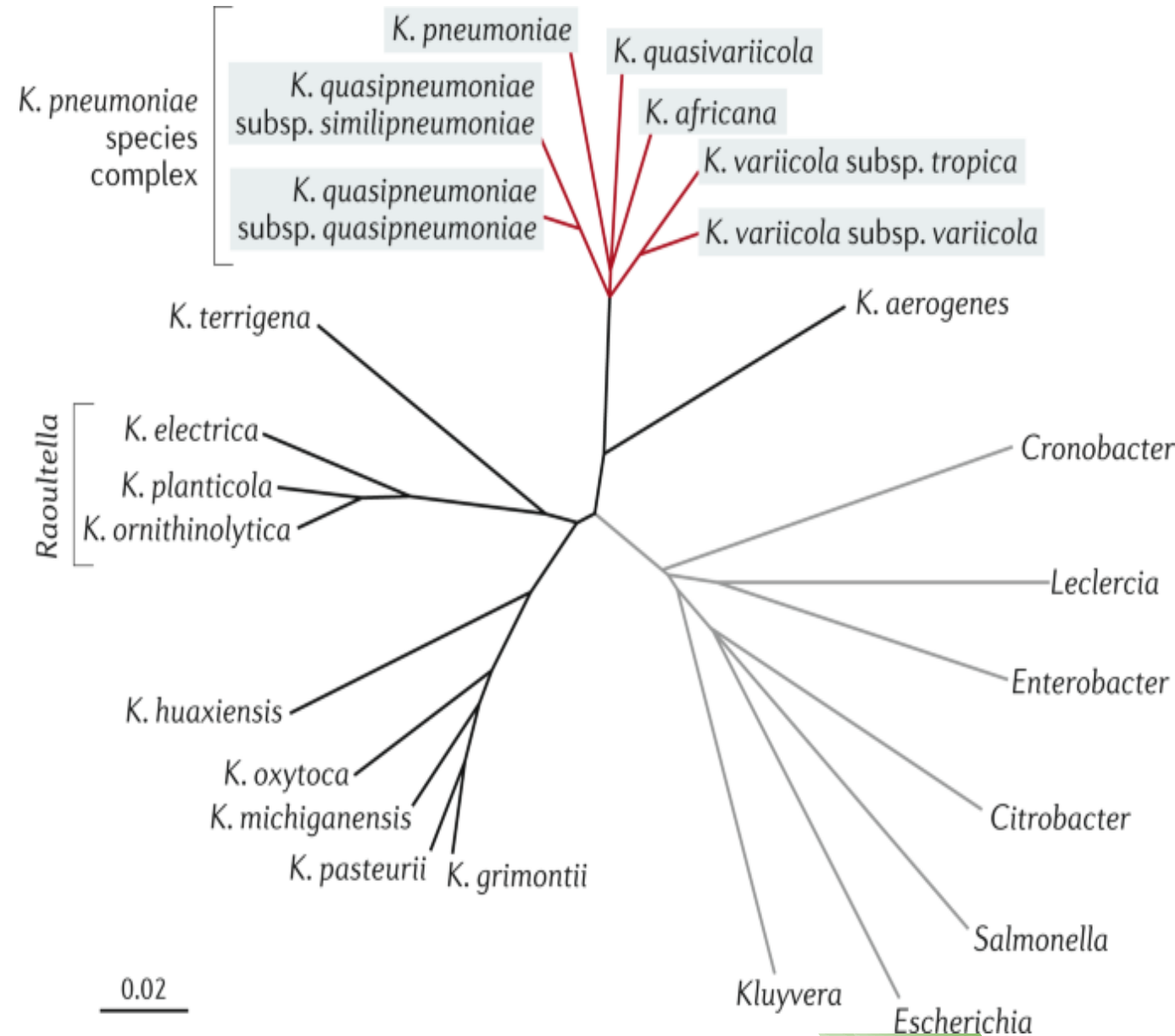


Tassonomia

☐ *Klebsiella pneumoniae* → famiglia delle *Enterobacteriaceae*.

☐ L'albero filogenetico mostra le correlazioni di *K. pneumoniae* con altre specie di *Klebsiella* e con alcuni generi della famiglia *Enterobacteriaceae*.

☐ Una serie di specie strettamente correlate a *K. pneumoniae* (95-96% di identità nucleotidica) vengono raggruppate nel: «*K. pneumoniae* species complex» (KpSC).





Ecologia e stile di vita

K. pneumoniae può sopravvivere in una moltitudine di nicchie ecologiche e può essere:

- ❖ Commensale comune
- ❖ Patogeno primario
- ❖ Patogeno opportunista

La maggior parte delle infezioni a livello globale sono infezioni opportunistiche ospedaliere (Health care Associated Infections).

Al di fuori dell'ambiente ospedaliero può causare gravi infezioni comunitarie (Community Acquired Infections).

Vi è correlazione tra i ceppi isolati dall'uomo e da animali da compagnia. Può essere isolato anche da alcuni generi alimentari.



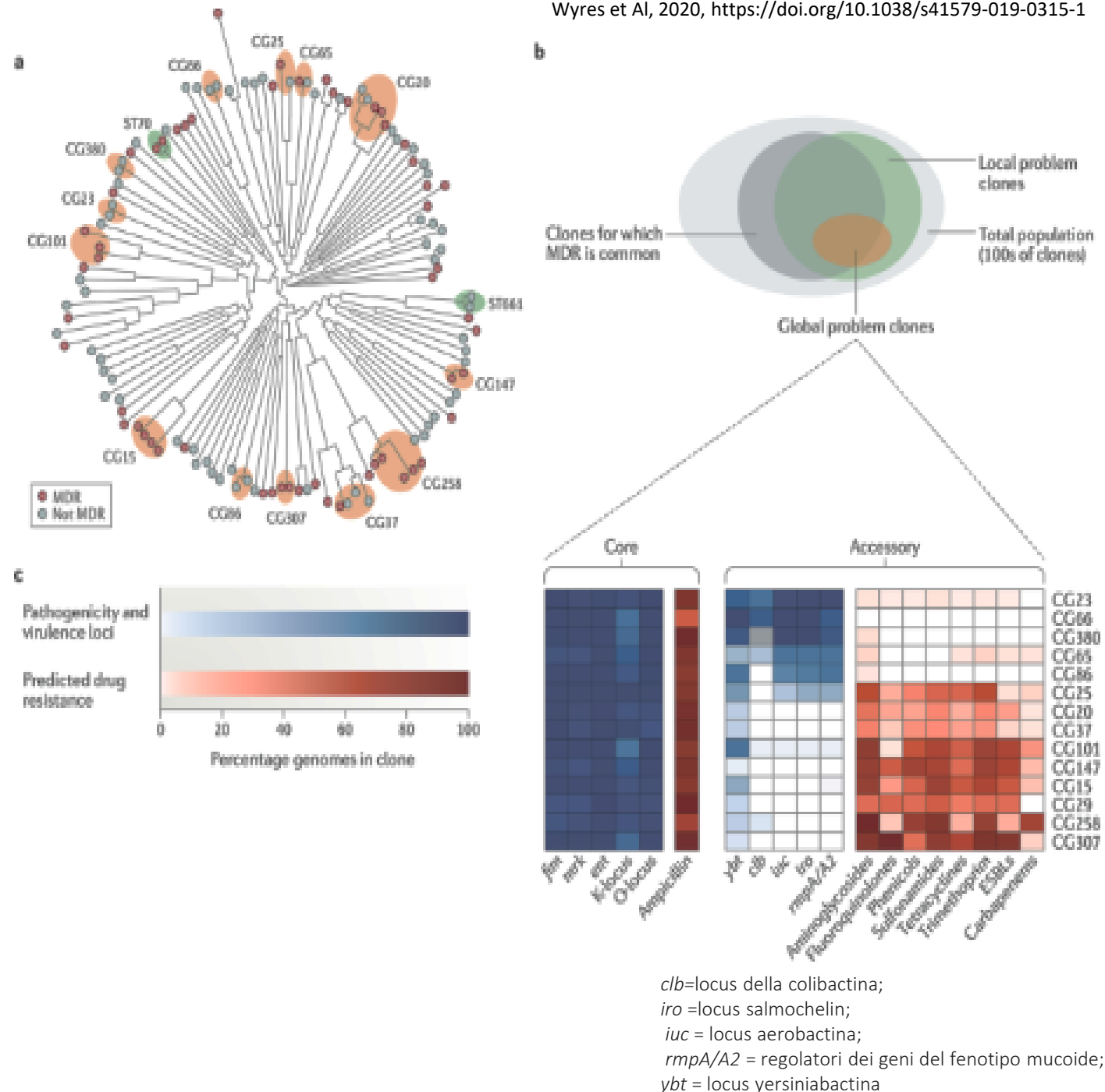
<https://medicinaysaludpublica.com/noticias/infectologia/asi-es-la-klebsiella-una-superbacteria-que-resiste-a-los-antibioticos-y-se-contagia-en-los-hospitales/9998>



Quadro genomico

La popolazione di *K. pneumoniae* è diversificata, ma strutturata. I genomi hanno una dimensione di circa 5-6 Mbp e codificano all'incirca 5.000-6.000 geni.

- **Parte a:** albero filogenetico basato sull'intero genoma che mostra centinaia di cloni.
- **Parte b:** cloni MDR possono essere identificati solo sporadicamente e non diffondersi per diventare problemi locali o globali; e alcuni cloni epidemici globali non sono MDR.
- **Parte c:** prevalenza dei fattori di patogenicità e virulenza (blu) e dei geni di resistenza agli antibiotici (rosso).

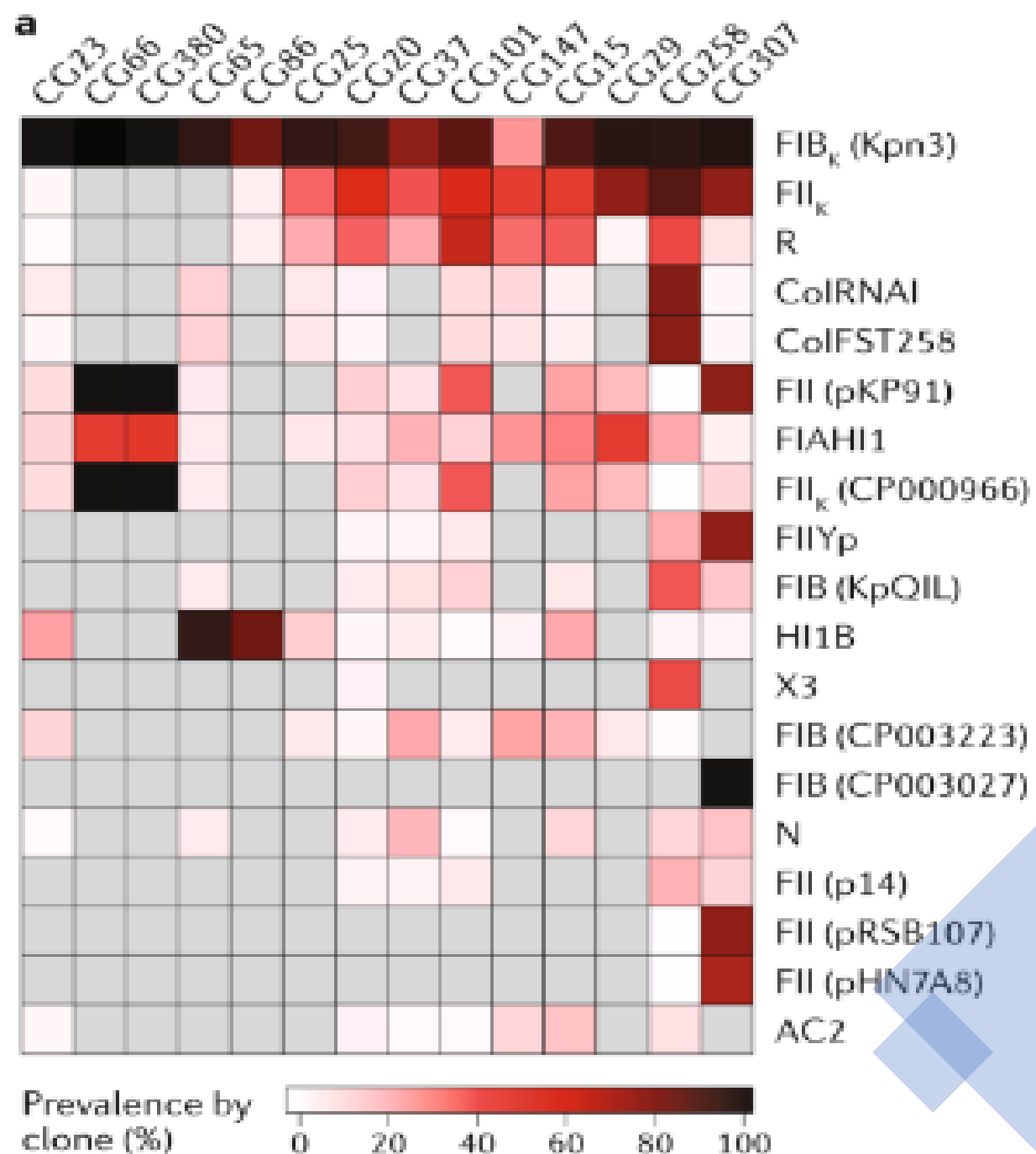




La MDR è definita come resistenza a ≥ 3 classi di antibiotici oltre all'ampicillina.

Mapa termica della distribuzione di 19 geni marcatori tipici dei gruppi plasmidici più comuni (asse y) in 14 cloni epidemici di *K. pneumoniae*.

- **CG23**: gruppo clonale recentemente associato alle infezioni del sangue.
- **CG15**: gruppo clonale resistente alle cefalosporine di terza generazione.
- **ST11**: sequence type isolata da pollame, rappresenta il 12% di ceppi resistenti ai carbapenemi (CRKp).





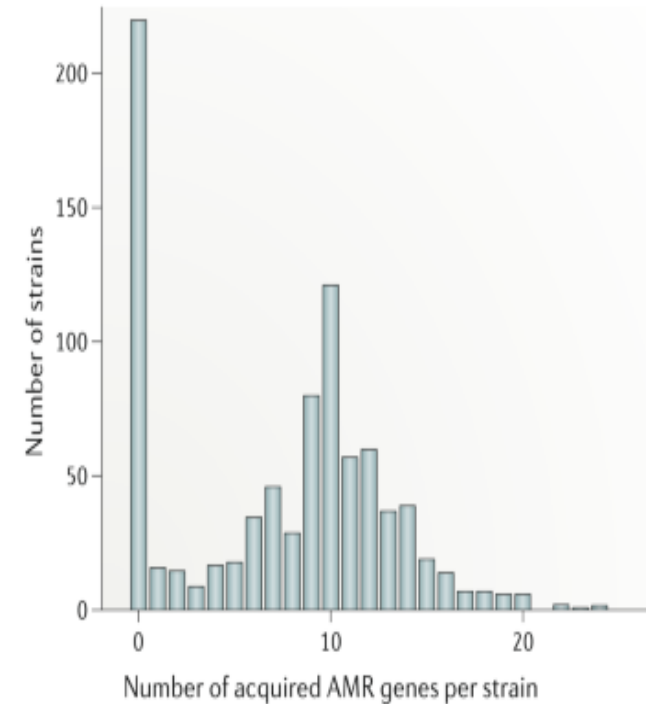
Antibiotico-Resistenza

È stata osservata clinicamente una resistenza a tutte le classi di antibiotici usati per il trattamento di *K. pneumoniae*.

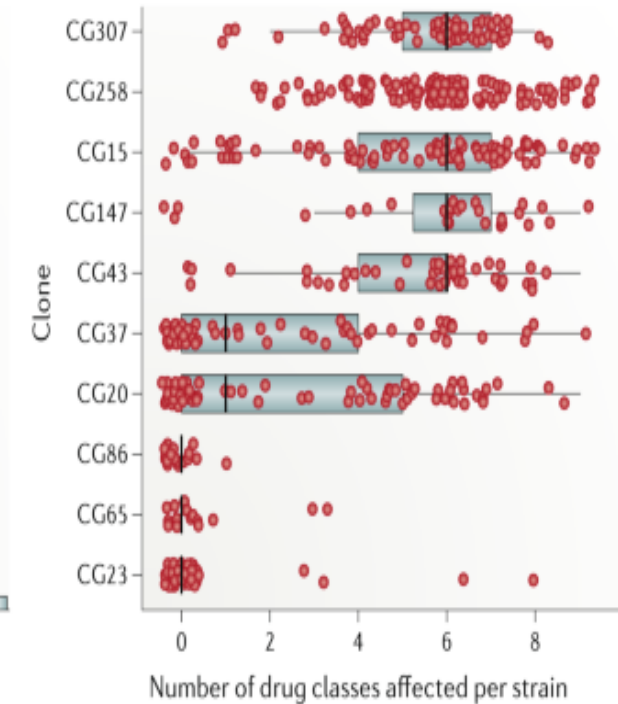
La maggior parte della resistenza agli antibiotici è associata a geni acquisiti orizzontalmente (AMR).

- **Grafico a:** numero di geni AMR acquisiti (anti-microbial resistance) per numero di ceppi.
- **Grafico b:** classi di farmaci influenzati dai geni acquisiti.
- **Tabella c:** geni core coinvolti nella suscettibilità antibiotica.

a Acquired AMR gene load per strain



b Drug classes affected by acquired genes



c Core genes involved in antimicrobial susceptibility

Mechanism	Genes	Colistin	Carbapenems	Fluoroquinolones	Nitrofurantoin	Tigecycline
Porin modification	<i>ompK35</i> and <i>ompK36</i>		■			
Lipid A modification	<i>phoPQ</i> , <i>pmrAB</i> , <i>mgrB</i> and <i>ccrAB</i>	■				
Topoisomerase mutation	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>parC</i> and <i>parE</i>			■		
Efflux pump expression	<i>oqxAB</i> , <i>acrAB</i> (<i>ramAR</i> , <i>rarA</i> , <i>soxS</i> and <i>marA</i>)		■	■	■	■
Ribosomal S10 protein mutation	<i>rpsJ</i>					■



Patogenicità e virulenza

Numerosi fattori genetici contribuiscono alla capacità dei ceppi di *K. pneumoniae* di causare malattie nell'uomo.

FATTORI DI PATOGENICITA'

- locus *ent*
- i core *fim* e *mrk*
- antigene K
- antigene O

FATTORI DI VIRULENZA

- sistemi siderofori acquisiti
- Colibactina
- ipermucoidia

Cloni **ipervirulenti**: caratterizzati da combinazioni di specifiche varianti di fattori di virulenza e di patogenicità nonché di fattori accessori di virulenza.

PRESUNTI FATTORI DETERMINANTI L'IPERVIRULENZA

- Geni specifici della capsula
- Marcatori specifici dei cloni
- Ipermucoidia e geni *rmpA*
- Recettori siderofori



Conclusioni

- ✓ L'applicazione della genomica ha rivelato una notevole diversità genetica accelerando la comprensione di importanti fattori.
- ✓ È risultato evidente che non esiste un 'tipico' *K. pneumoniae*.
- ✓ Non tutte le infezioni sono associate alla trasmissione ospedaliera.
- ✓ WGS: potente strumento per monitorare ed esplorare l'epidemiologia del batterio.
- ✓ Il WGS ha portato alla scoperta di focolai ospedalieri locali fornendo gli strumenti per strategie di intervento e prevenzione.
- ✓ Questione irrisolta: individuazione dei serbatoi principali di *K. Pneumoniae* e il loro ruolo.

