

Efecto de la alta tasa de transposición de IS6110 en la región oriC sobre la virulencia de Mycobacterium tuberculosis. DBE-Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IB-Universidad Central de Venezuela, DP-INCMN, México.

Salazar, Leiria⁵ ;
Turcios, Lilia¹;
Casart, Yveth²;
de Waard, Jacobus³;
Aguilar, Diana⁴;
Hernández-Pando,
Rogelio⁴

¹DBE-Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas y IB-Universidad Central de Venezuela;

²DBE-Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas y DP-INCMN, México;

³IB-Universidad Central de Venezuela;

⁴DP-INCMN, México;

⁵DBE-Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Venezuela

Ha sido sugerido que el elemento IS6110 es un factor importante en la variación del genoma de *M. tuberculosis*. Aunque el polimorfismo de *M. tuberculosis* asociado a la secuencia de inserción IS6110 sugiere que este elemento se transpone al azar, la caracterización de algunos loci de inserción ha revelado que existen sitios preferenciales de inserción, siendo la región intergénica dnaA-dnaN una de ellas. Esta región contiene el origen de replicación del cromosoma (oriC) y la región promotora del gen dnaN. Inserciones específicas de IS6110 en oriC (A1) han sido utilizadas para definir la familia Beijing de *M. tuberculosis*. En este trabajo se analizaron, mediante IS6110-RFLP y rehibridación con una sonda oriC, 125 aislados clínicos responsables de epidemias en Venezuela. Secuenciación de la región oriC reveló que en 3 aislados el elemento IS6110 se encuentra inserto en la región promotora del gen dnaN. En dos aislados, denominados D y E, amplificación por PCR de la región oriC dio lugar a dos fragmentos de 530pb y 1890pb respectivamente, sugiriendo que estos aislados pudieran estar contaminados con más de una cepa o la existencia de heterogeneidad clonal. Análisis de 50 colonias aisladas a partir de las muestras originales demostraron la presencia de cepas isógenas en ambos aislados, las cuales difieren entre sí en una banda, correspondiente a una inserción adicional de IS6110 en oriC. Más aún, se encontró que en el aislado D algunas cepas presentan un único sitio de inserción de IS6110 en oriC, pero en dirección contraria, sugiriendo que el reciente evento de transposición consistió en una simple inversión de IS6110. No se detectó ninguna diferencia en el patrón de spoligotyping entre las muestras originales y los subclones aislados. Con el objeto de investigar el posible efecto de la alta tasa de transposición de IS6110 en oriC sobre la virulencia de *M. tuberculosis*, 2,5 x 10⁵ bacterias obtenidas a partir de los aislados clínicos originales y de 5 subclones derivados de ellos, fueron utilizados para inocular un total de 800 ratones BALB/c. Análisis de supervivencia, conteo de la carga bacilar y morfometría de pulmones infectados demostraron que cepas isógenas de *M. tuberculosis*, que difieren entre sí por la presencia de un elemento IS6110 en la región oriC, muestran marcadas diferencias en la patogénesis que inducen en estos animales. Actualmente, se está cuantificando por PCR a tiempo real los cambios en la expresión de los genes dnaA y dnaN, así como de la transposasa del elemento IS6110, a partir del ARN total aislado de pulmón de ratones infectados. Fondos: Unión Europea (ICA4-CT2002-10063) y FONACIT-Venezuela (S1-2001000706)