

BM-14

INESTABILIDAD DE PLÁSMIDOS DE *E. coli* EN *S. typhi* Y CLONACIÓN DE UN FRAGMENTO RELEVANTE

Santillán-Benítez Jonnathan G.¹ Mendoza-Medellín Aurelio,¹ Curiel-Quesada Everardo.²

¹ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Av. Paseo Tollocan esq. Jesús Carranza, Toluca, Estado de México; ² Departamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. e-mail: genetika_adn@latinmail.com, menmeau777@hotmail.com

Palabras clave: *S. typhi*, inestabilidad de plásmidos, resistencia antibióticos, clonación.

Introducción: La *Salmonella typhi* es infecciosa para el ser humano; es el agente etiológico de la fiebre tifoidea, enfermedad endémica en muchos países del mundo en desarrollo, donde se presentan aproximadamente 12.5 millones de casos anualmente, con cerca de un 10 % de casos mortales.^{1,2}

Antes de 1972, la mayoría de las cepas de *S. typhi* aisladas eran sensibles a cloranfenicol; sin embargo, las dos epidemias de fiebre tifoidea que ocurrieron ese año marcaron un cambio significativo ya que tanto en la de México¹ como en la de India, las cepas que se aislaron eran resistentes a cloranfenicol y a otros antibacterianos.^{1,2}

S. typhi parece no tener genes de resistencia a antibióticos y de acuerdo con varios estudios epidemiológicos las cepas de este taxón tienen proporciones relativamente bajas de plásmidos, en promedio 17 %.

Por otra parte, se ha documentado la capacidad de *S. typhi* de recibir factores R *in vivo* a partir de otras enterobacterias tanto *in vivo* como *in vitro*, la escasa presencia de plásmidos en las cepas de *S. typhi* esta relacionada con la inestabilización de los plásmidos una vez que se encuentran en ese taxón.

Asimismo, en una cepa de *S. typhi*, tres plásmidos originarios de *E. coli* perdieron un marcador de resistencia por delección y luego se segregaron.^{1,2}

Objetivo: Analizar el comportamiento de tres plásmidos de *E. coli* en 10 cepas diferentes de *S. typhi* y clonar el fragmento deletable de uno de dichos plásmidos.

Metodología: En las 10 cepas de *S. typhi* con cada uno de los tres plásmidos se analizó la estabilidad de los plásmidos a través de sus marcadores de resistencia.

Con metodología estándar se clonó el fragmento EcoRI del plásmido pFEC59 que contiene la secuencia deletable involucrada en la inestabilización del plásmido. Se usó el vector pBR325.³

Resultados: Cada uno de los plásmidos pierde un marcador de resistencia por delección y luego se segrega con una cinética común en cada una de las diez cepas, análogamente a lo descrito anteriormente.

Se clonó el fragmento deletable EcoRI No. 4 de pFEC59 en el vector pBR325 (Figura 1). Dicho fragmento contiene el segmento deletable asociado con la inestabilización y segregación del plásmido.

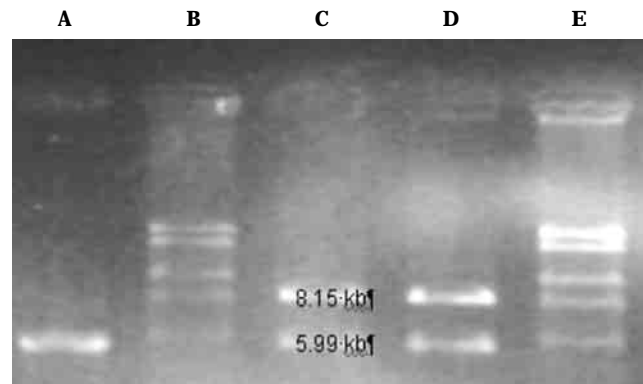


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa de extractos de ADN plasmídico obtenidos de dos clones transformantes Tc^R Cm^S y los controles correspondientes, tratados con *Eco*RI: A. pBR325; B. pFEC59 Tp^R; C. Transformante No.3; D. Transformante No.6; E. pFEC59 Tp^R.

Discusión: El mecanismo de inestabilización parece ser el mismo en todas las CEAS e involucra la producción de delecciones. El fragmento clonado permitirá determinar las secuencias que se pierden en el proceso y el mecanismo de inestabilización.

Conclusiones: En los tres plásmidos ocurren eventos de delección que se asocian con el fenotipo de pérdida de uno de los marcadores de resistencia.

Las evidencias obtenidas en este trabajo fortalecen la noción de que los tres plásmidos analizados tienen un comportamiento similar en el taxón *S. typhi*, responsable de que se pierdan después de un cierto número de generaciones a través de un mecanismo en el que juegan un papel importante las delecciones que sufren.

Se clonó el fragmento *Eco*RI 4 del plásmido pFEC59 en el vector de clonación pBR325, lo cual permitirá profundizar en el estudio del mecanismo de segregación del plásmido en *S. typhi*.

REFERENCIAS

1. Mendoza MA, Everardo CQ, CC Rafael. *Escherichia coli* R- Factors instable in *Salmonella typhi* are deleted before being segregated in this host. *Plasmid* 2004; 51: 75-86.
2. Mendoza MA. Estudio genético y de condiciones ambientales para la detección de factores que afectan la estabilidad de los plásmidos R en *S. typhi*. Tesis de Doctorado en Ciencias, México 2004. p. 10-43.
3. Sambrook J, Russell DW, Maniatis T. *Molecular cloning laboratory manual*, 3rd ed. London: C.S.H.L. Press, 2001. Appendix B. p. 1.25-1.28.