



Papel de los genes *gne* Y *galE* en la biosíntesis del LPS y la virulencia del patógeno *vibrio vulnificus* biotype 2 serovar E

Esmeralda Valiente¹, Natalia Jiménez², Susana Merino², Juan M. Tomás² and Carmen Amaro¹

¹ Departamento de Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia, Burjassot, Valencia.

² Departamento de Microbiología, Universidad de Barcelona, Barcelona.

Vibrio vulnificus biotipo 2 serovar E es el agente etiológico de infecciones humanas y de peces que pueden ocasionar muerte por septicemia. El genoma de dos cepas de biotipo 1 y origen humano ha sido secuenciado. Con el objetivo de determinar el papel del LPS y la cápsula en la virulencia de este patógeno, seleccionamos dos genes implicados en su biosíntesis en otros patógenos gramnegativos y obtuvimos mutantes en cada uno de ellos por intercambio alélico. Los genes seleccionados fueron *gne*, que codifica una UDP-GalNAc 4-epimerasa, y *galE* que codifica una UDP-Gal-4-epimerasa. En primer lugar, comprobamos mediante PCR que ambos genes estaban presentes en todas las cepas de la especie, independientemente de su biotipo y serovariedad, los secuenciamos y los comparamos con los publicados encontrando que presentaban una elevada homología intra-especie. A continuación, estudiamos las posibles alteraciones en el fenotipo de ambos mutantes siempre relacionándolas con virulencia para humanos y peces. No observamos diferencias ni en los polisacáridos de superficie ni en la virulencia entre la cepa parental y el mutante *galE*, lo que sugiere que este gen no tiene ningún papel ni en la biosíntesis de los polisacáridos de superficie ni en la virulencia de esta serovariedad. Sin embargo, el mutante deficiente en *gne* presentó profundas alteraciones en su membrana externa en paralelo a un incremento significativo en su sensibilidad a péptidos catiónicos y a suero humano y de peces, inactivado o no. Este mutante también presentaba una atenuación significativa en su grado de virulencia para ratones (modelo animal para testar virulencia para humanos) y había perdido completamente su virulencia para peces. El cambio de fenotipo virulento a avirulento estuvo correlacionado con la pérdida del antígeno O, el cual estaba ausente en el mutante deficiente en *gne*. El fenotipo virulento se restauró mediante complementación del gen lo que definitivamente demuestra que el gen *gne* es esencial en la biosíntesis del LPS de *V. vulnificus* biotipo 2 serovar E y en la virulencia de esta bacteria septicémica.