

Mecanismos involucrados en la variabilidad del antígeno O de bacterias Gram negativas

Rosa E. Reyes,^{*,**,*} Hugo Ramírez Saad,^{***} Cecilia Solís Galicia,^{****} Maribel Ortiz Herrera,^{*****} Rafael Coria Jiménez^{*****}

RESUMEN. El lipopolisacárido (LPS) es una estructura heterogénea de las bacterias Gram negativas, que permite al microorganismo adaptarse a su ambiente. Su heterogeneidad recae en la naturaleza, orden y unión de los diferentes azúcares que constituyen la cadena polisacárida del antígeno O en la modificación de estas moléculas de carbohidratos y en los cambios en la longitud de su cadena. La composición y la longitud de la cadena del antígeno O se asocia a la virulencia del microorganismo y esta característica varía entre cepas bacterianas y aún intracepa. Los cambios en la composición y estructura del LPS pueden originarse por variación de fase y por transferencia lateral de genes. La variabilidad del LPS afecta las propiedades de adhesión del microorganismo a la célula del huésped; esta molécula es el blanco principal de la respuesta inmune innata e induce la liberación de mediadores inflamatorios. Las modificaciones del antígeno O desempeñan un papel importante en los procesos de infección y evasión de la respuesta inmune del huésped y en la serotipificación de especies Gram negativas. El objetivo de esta revisión es describir los mecanismos involucrados en la variabilidad que presenta el antígeno O del LPS de las bacterias Gram negativas.

Palabras clave: Lipopolisacárido, heterogeneidad del antígeno O, variación de fase, transferencia lateral de genes, glicosiltransferasas.

ABSTRACT. The lipopolysaccharide (LPS) is a heterogeneous structure of gram-negative bacteria which permits the microorganism to adapt to its environment. The heterogeneity of LPS falls on the nature, order, and union of different types of sugars which constitute the polysaccharide chain of the O antigen. The O antigen modifies its sugar molecules by union of different radicals, and elongation of its chain. The composition and length of the chain of the O antigen is an indicator of virulence, and this characteristic varies among bacterial strains and even intrastrains. Changes in the composition and structure of LPS could be caused by phase variation, and lateral transference of genes. The variability of LPS affects the adhesion properties of the microorganism to the cells of its host; this molecule constitutes the principal target of innate immune response and induces release of inflammatory mediators. Modifications of O antigen play an important role in the infection process, evasion of immune response of the host, and serotyping of Gram-negative bacteria. The objective of this review is to describe the mechanisms involved in the variability that the O antigen of LPS of Gram-negative bacteria presents.

Key words: Lipopolysaccharides, O antigen heterogeneity, phase variation, lateral transference of genes, glycosyltransferases.

1. INTRODUCCIÓN

La adaptación de los microorganismos comensales y patógenos al ambiente del huésped está sujeta a las reglas de la selección natural, mediante interacciones dinámicas huésped-microorganismo. En general, las bacterias poseen dos mecanismos principales de adaptación a su ambiente: i) cambios en la expresión de sus genes (una alteración en el fenotipo sin cambio en el genotipo) o bien, ii) cambios en el genotipo (Moxon, *et al.*, 2006).

Entre los componentes de superficie de las bacterias Gram negativas el lipopolisacárido (LPS) es el constituyente principal de la membrana externa (Nikaido, 1996), ésta es una estructura heterogénea involucrada de manera importante en el proceso de adaptación del microorganismo a su ambiente. El LPS está constituido de segmentos conservados e hipervariables. Los dominios conservados del LPS son regiones compartidas por las especies bacterianas, las cuales intervienen en el desarrollo y en la sobrevivencia de la bacteria. El antígeno O es la parte hipervariable de la estructura del LPS y está constituido de unidades repetidas de oligosacáridos (de dos a seis azúcares). Las regiones variables pueden presentar modificaciones, como una alteración en la longitud de la cadena oligosacárida, cambios en su composición y cambios en la configuración química, lo cual puede afectar la estructura celular (Dixon y Darveau, 2005).

2. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL LIPOPOLISACÁRIDO

Los LPS son moléculas esenciales para la estructura y función de la membrana externa de la pared celular de las

* Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco-Iztapalapa.

** Laboratorio de Farmacología, Instituto Nacional de Pediatría, SSA.

*** Departamento de Sistemas Biológicos, División CBS. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

**** Centro de Información y Documentación, Instituto Nacional de Pediatría, SSA.

***** Laboratorio de Bacteriología Experimental, Instituto Nacional de Pediatría, SSA.

bacterias Gram negativas, intervienen en el transporte de moléculas hidrofóbicas hacia el interior de la célula bacteriana y son un factor esencial en la interacción huésped-microorganismo.

El LPS es un glicoconjugado anfipático de masa molecular de aproximadamente 10kDa; constituye del 10 al 15% del total de las moléculas de la membrana externa y representa el 75% del total de la superficie bacteriana. (Caroff y Karibian, 2003). El LPS tiene tres dominios diferentes: a) El lípido A, es el dominio que se ancla en la membrana y la parte hidrofóbica y endotóxica de la estructura, b) El núcleo oligosacárido, es el dominio que conecta al lípido A con el antígeno O y se divide en núcleo interno y núcleo externo, el núcleo interno se encuentra unido al lípido A y está compuesto de monosacáridos inusuales tales como el ácido 2-ceto-3-desoxioctanoico (KDO) y el L-glicero-D-mano-heptosa, el núcleo externo se une al antígeno O, y está constituido de azúcares comunes como hexosas y hexosaminas (Erridge, *et al.*, 2002) y c) El polisacárido O que es el dominio hidrofílico e inmunodominante del LPS, es un oligosacárido de unidades repetidas que se proyecta desde el núcleo hacia el exterior de la superficie bacteriana.

El antígeno O posee una cadena polisacárida que puede variar en su longitud, llegando hasta 40 unidades repetidas de didesoxihexosas. Se sabe que por lo menos 20 diferentes moléculas de azúcar pueden constituirlo, las cuales raramente se encuentran en la naturaleza, estos componentes

son característicos de cepa, tales como abequesa, colitosa, paratosa y tivelosa. El antígeno O es extremadamente variable inter e intraespecie y la variabilidad recae en la naturaleza, orden y unión de los diferentes azúcares (Lerouge y Vanderleyden, 2001) (Figura 1).

La biogénesis del LPS es un proceso complejo que se inicia en la cara citosólica de la membrana plasmática y culmina en la superficie de la célula bacteriana. Se han descrito dos mecanismos para la biosíntesis y ensamblaje del antígeno O: la vía dependiente del Wzy y la de los transportadores ABC.

El primero de estos mecanismos involucra la síntesis individual de las subunidades repetidas O sobre la cara citosólica, seguido por su translocación a la cara periplasmática de la membrana citoplasmática. Las subunidades en el periplasma empiezan a polimerizarse y posteriormente el polisacárido se une al oligosacárido del lípido A-núcleo con la liberación de undecaprenol fosfato (Und-PP). Esta vía, referida como dependiente de wzy, es la vía preferencial en el antígeno O en especial de los heteropolímeros.

Los genes involucrados en la biosíntesis del antígeno O por la vía dependiente wzy se encuentran generalmente en el locus *rfb* del cromosoma bacteriano y se clasifican en tres grupos: 1) Los genes que intervienen en la biosíntesis de azúcares de nucleótidos, 2) El grupo de genes que codifican a las glicosiltransferasas y 3) Los genes que intervienen en el procesamiento del antígeno O denominados *wzx*, *wzy* y *wzz*. Esta

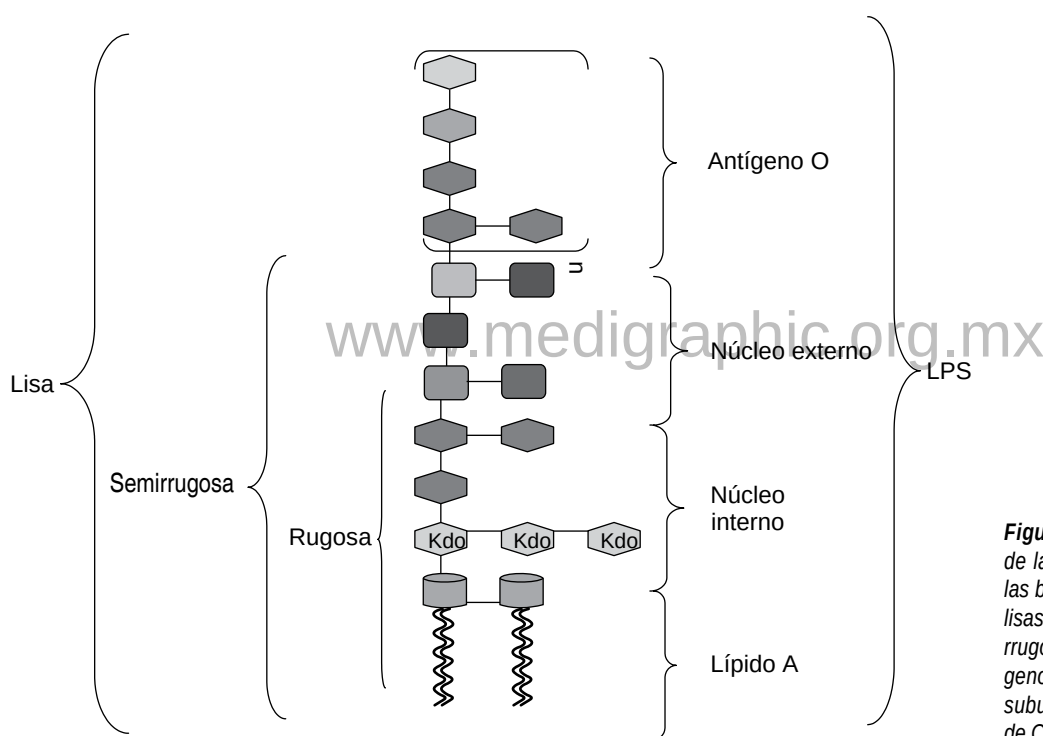


Figura 1. Representación esquemática de la estructura del lipopolisacárido de las bacterias Gram negativas. Las cepas lisas conservan el antígeno O, las semirrugosas portan una subunidad del antígeno O y las cepas rugosas pierden las subunidades del antígeno O (Adaptado de Caroff y Karibian, 2003).

vía involucra tres proteínas: la polimerasa Wzy, la translocasa Wzx y la proteína Wzz que regula la longitud de la cadena del antígeno O (Samuel y Reeves, 2003; Valdano, 2003).

El antígeno O es sintetizado en la cara citosólica de la membrana por la transferencia secuencial de sus respectivos precursores, los azúcares de nucleótidos, al lípido transportador (Und-PP). Las unidades O son polimerizadas por la proteína Wzy y transportadas por la translocasa Wzx. Por otra parte, el número de las unidades O que se unen al lípido A-núcleo es regulado por la proteína Wzz (Reeves y Wang, 2002; Franco y Reeves, 1998).

La proteína Wzz funciona como un reloj molecular que modula la actividad de Wzy favoreciendo la polimerización o la terminación de la cadena por acción de la ligasa WaaL. La proteína Wzz tiene dos hélices transmembranales que se encuentran localizadas cerca de los dominios amino y carboxilo terminal, Wzz parece ser un tetrámero con sitio de oligomerización en la región media, la oligomerización es necesaria para la determinación de la longitud de la cadena y la región que participa en la unión de los monómeros se localiza en el dominio periplasmático. El antígeno O interactúa directamente con Wzz e induce cambios en su conformación lo que sugiere un mecanismo molecular de Wzz para regular la longitud de la cadena (Tang *et al.*, 2007).

Se ha propuesto que la translocación final de la molécula completa de LPS a la superficie celular es mediada por un complejo proteico de la membrana externa Imp/RlpB (Wu *et al.*, 2006).

El segundo mecanismo de biosíntesis del LPS es el de los transportadores ABC, vía predominante en la síntesis de los antígenos O homopolímeros. Los transportadores ABC utilizan la energía del ATP para transportar las moléculas a través de la membrana. En los organismos estudiados a la fecha los dominios de los transportadores ABC se han conservado evolutivamente. El núcleo de los transportadores ABC consiste de cuatro dominios: dos transmembranales y dos unidos a nucleótidos, que contienen secuencias conservadas involucradas en la unión e hidrólisis del ATP.

El homopolímero se sintetiza en la cara citosólica de la membrana y el alargamiento del polímero es mediado por glicosiltransferasas. El polímero naciente es transportado a través de la membrana citoplasmática por las proteínas transportadoras ABC y posteriormente es unido al oligosacárido del Lípido A-núcleo (Keenleyside y Whitfield, 1999).

Los transportadores ABC son responsables de la exportación de la gran variedad de glicoconjugados a la superficie celular y esto incluye al antígeno O (O-PS); las cepas de *Escherichia coli* serotipos O8 y O9a son el sistema prototipo para estudiar la exportación del O-PS vía transportadores ABC. Los transportadores son proteínas transmembranales como la proteína Wzm y la proteína Wzt, que se unen a nucleótidos. Aunque el dominio N-terminal de Wzt es una

proteína convencional ABC, el dominio C-terminal es un elemento estructural único que determina la especificidad del transporte de O8 y O9 O-PS. Los dos dominios de Wzt pueden funcionar aun cuando se expresen los polipéptidos por separado, sin embargo, ambos son necesarios para la exportación. *In vitro*, C-Wzt se une al O-PS al reconocer un residuo no reductor localizado en la parte terminal del polímero. Los polímeros N- y C-Wzt pueden funcionar en *trans* y ambos son requeridos para la función del transporte. *In vitro* C-WztO8 y WztO9 se unen a sus respectivos cognados O-PS en la cadena terminal modificada, la cual es finalizada por la acción de WbdD (Cuthbertson, *et al.*, 2007) (Figura 2).

El antígeno O es la parte inmunodominante del LPS y por lo tanto es el blanco más importante para la respuesta humoral por parte del huésped, por esta razón es la base de la tipificación serológica de las bacterias Gram negativas. El antígeno O es reconocido por la respuesta inmune innata y participa en la activación del Complemento y en la inhibición de la formación del complejo de ataque a la membrana (Erridge *et al.*, 2002; Lerouge y Vanderleyden, 2001).

3. DIVERSIDAD ESTRUCTURAL DEL ANTÍGENO O

En los patógenos bacterianos las estructuras más variables son aquellas que se expresan en la superficie de la célula. La individualidad genética como variabilidad intraespecie tiene rasgos heredables que pueden observarse en una muestra de individuos. La variabilidad genética es originada por la combinación de un determinado número de genes, cada uno de los cuales existe como una familia de alelos divergentes en estructura y función. Un ejemplo de esta familia de genes es la localizada en el locus biosintético del antígeno O y un fenómeno a nivel poblacional es la hipervariabilidad en la estructura de esta biomolécula (Olson *et al.*, 2004).

La mayoría de los antígenos O son heteropolímeros, aunque algunos pueden estar compuestos de un solo monosacárido. El antígeno O de una cepa bacteriana puede presentar heterogeneidad en la longitud de su cadena. Los polisacáridos pueden modificarse por adición de grupos glicosilo, fucosilo o bien por sustituyentes no carbohidratos como grupos acetilo o metilo. Esta heterogeneidad puede apreciarse en los perfiles característicos de «escalera» en geles de poliacrilamida-SDS teñidos con plata (Figura 3).

4. MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA VARIACIÓN FENOTÍPICA DEL ANTÍGENO O

4.1. Longitud de la cadena y glicosilación

Se ha demostrado que las funciones del antígeno O están relacionadas a la longitud de su cadena polisacári-

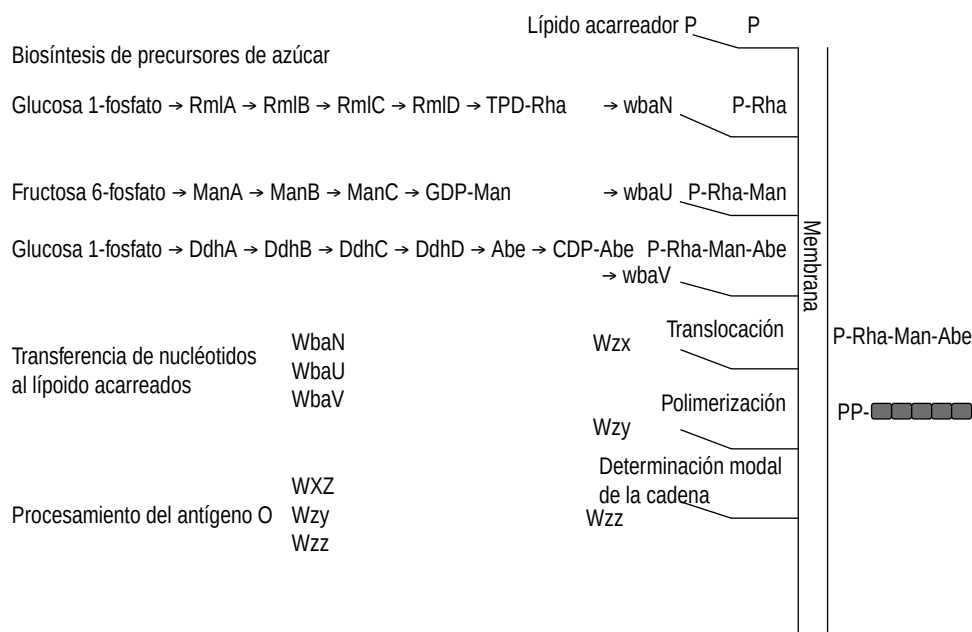


Figura 2. Síntesis del antígeno O por la vía Wzy. La síntesis del antígeno O involucra tres grupos de genes: genes que intervienen en la síntesis de precursores de azúcar, genes que intervienen en la transferencia de azúcares de nucleótidos al lípido acarreador y los genes que intervienen en el ensamblaje y exportación de las unidades del antígeno O: el gen *wzx* que codifica una translocasa, *wzy* que codifica a la polimerasa y *wzz* que codifica una proteína que determina la longitud de la cadena (Adaptado de Samuel y Reeves, 2003).

da (Najdenski *et al.*, 2003). Considerando el número de subunidades del antígeno O unidas al lípido A-núcleo, la longitud de la cadena se puede dividir en tres grupos: 1) cadena corta (7 a 16 unidades O), 2) cadena intermedia (10 a 18 unidades O) y 3) cadena larga (16 a 25 unidades O). La proteína Wzz posee dos dominios transmembranales: TM1, TM2 y una asa central localizada en el periplasma, cambios específicos de aminoácidos en el dominio TM2 afectan la función de la proteína y la longitud del oligosacárido (Franco y Reeves, 1998; Daniels y Morona, 1999).

Guard-Petter *et al.* (1999) observaron un incremento en la longitud y glicosilación de la cadena del antígeno O de peso molecular bajo en cepas mutadas en el gen *wzz*. Se ha demostrado que las cadenas del antígeno O de peso molecular alto son el sustrato preferencial para la glicosilación; así, las cadenas mayores de 11 subunidades repetidas se glicosilan en un 50%, mientras que las cadenas con una longitud de 5 subunidades son poco glicosiladas (Raman *et al.*, 1997). Existen algunos reportes que indican que la glicosilación del LPS de peso molecular bajo se incrementa por la temperatura y el pH (Guard-Petter *et al.*, 1996).

La metilación del DNA por la enzima Dam (DNA adenina metiltransferasa) contribuye a la adaptación de la superficie bacteriana a estadios específicos durante la infección. Dam cataliza la metilación en la posición N6 de los residuos de adenina en la secuencia GATC, la sobreproducción de Dam modula la composición del antígeno O a nivel post-transcripcional permitiendo un incremento en la cantidad de LPS rugoso (Fälker *et al.*, 2007).

Mutantes *galU* de cepas de *Aeromonas hydrophila* muestran dos tipos de estructura del LPS, el primero con núcleo completo y con la pérdida del residuo terminal de galactosa y el segundo con una estructura truncada del núcleo oligosacárido. Las mutantes *galU* muestran una disminución en su habilidad para adherirse, una reducción en la longitud de su cadena O y una reducción discreta en sus porcentajes de supervivencia a la actividad del suero humano normal (Vilches *et al.*, 2007).

La cepa de *Shigella flexneri* 2a 2457T produce un LPS con antígeno O de longitud de cadena diferente: una corta, controlada por WzzB y una larga determinada por WzzpHS-2. La síntesis y la longitud de la distribución de la cadena del antígeno O de *S. flexneri* dependen de la fase de crecimiento. El análisis electroforético cuantitativo del LPS de este microorganismo demuestra que la longitud del antígeno O de cadena larga se incrementa durante el crecimiento, mientras que la longitud del antígeno O corto permanece constante. El incremento en la producción del antígeno O de cadena larga se relaciona con la fase de crecimiento y la regulación de la expresión del factor de alargamiento de la transcripción (RfaH). Las mutantes *drfaH* sintetizan únicamente antígeno O de peso molecular bajo y pequeñas cantidades de antígeno O de cadena corta y en ellas se observa una reducción drástica de la expresión de la polimerasa Wzy. La sobreexpresión de Wzy influye no sólo la polimerización sino también la distribución de la longitud de la cadena produciendo grandes cantidades de moléculas de antígeno O de cadena larga. Un incremento de WzzB y WzzpHS-2 altera también la distribución de la longitud de

la cadena. En *S. flexneri* la expresión de los genes *wzy*, *wzzB* y *wzzpHS-2* es regulada para obtener un balance apropiado entre las proteínas responsables de la polimerización y de la distribución de la longitud de la cadena del antígeno O (Carter *et al.*, 2007).

4.2. Variación de fase

La variación de fase se define como un cambio en la expresión de los antígenos de superficie de las bacterias. En general la variación de fase es un evento heredable, reversible, estocástico, que puede ser modulado por factores externos y se refiere como un interruptor reversible entre un «todo o nada» (on/off) a nivel de la expresión de una o varias proteínas entre células individuales de una población clonal. Este evento se presenta con una frecuencia de un cambio en una de cada 10 células durante una generación, o bien puede presentarse en el orden de un cambio en una célula por cada 10^3 células por generación (van der Woude y Bäumlér, 2004).

La variación de fase se ha asociado con la virulencia de las cepas bacterianas y se presenta en estructuras de superficie como el LPS, las proteínas de membrana y los pilis, *in vivo* la variación de fase representa un paradigma de microevolución (Morschhauser *et al.*, 2000).

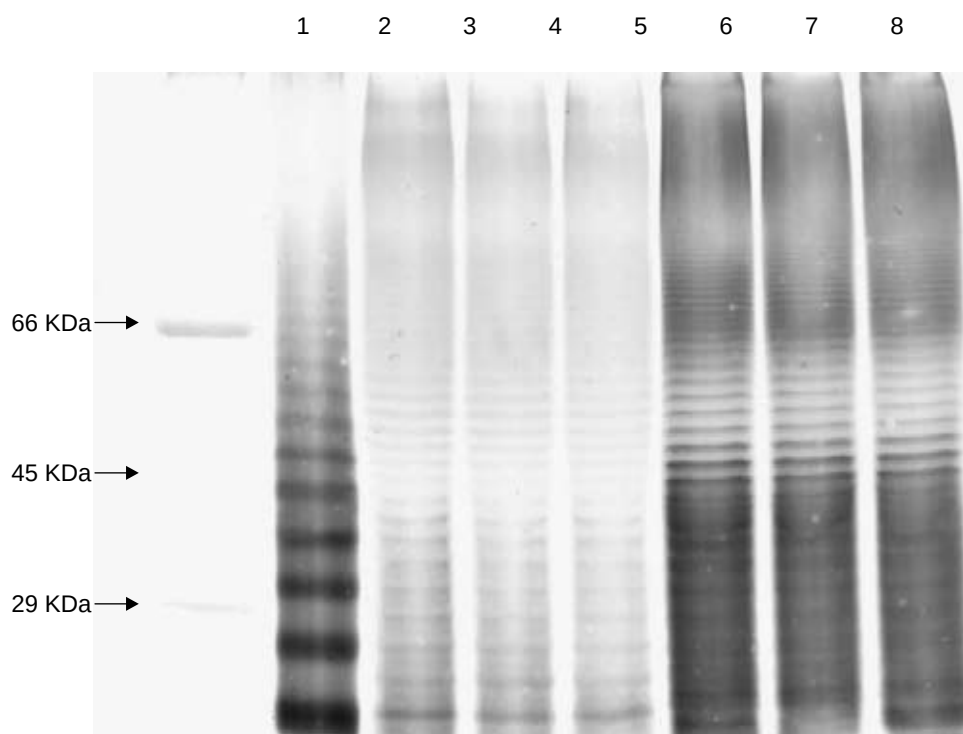
En diferentes cepas bacterianas la variabilidad de la expresión del antígeno O se ha descrito como variación de fase; entre los géneros y especies que presentan variación

de fase podemos mencionar a *Salmonella enterica serovar typhimurium*, *S. enterica serovar enteritidis* y *Helicobacter pylori*. Se ha demostrado que la variabilidad del LPS puede afectar la sensibilidad bacteriana a la actividad bactericida del suero y su adhesión a la célula huésped (Guard-Petter *et al.*, 1996; Appelmek *et al.*, 1998; Gibson *et al.*, 1998).

4.2.1. Mimetismo molecular

El mimetismo molecular se presenta cuando las bacterias poseen determinantes antigénicos idénticos o semejantes a los componentes normales de la célula huésped, lo que le permite al microorganismo evadir la respuesta inmune.

Dentro de los eventos de mimetismo molecular los lipooligosacáridos bacterianos juegan un papel importante, éstos son estructuras que pierden las unidades del antígeno O. (Preston *et al.*, 1996) Los lipooligosacáridos de cepas de *Campylobacter jejuni* presentan modificaciones específicas, involucradas en el mimetismo molecular de gangliósidos, asociados a los síndromes de Guillain-Barré y Miller-Fisher. En *C. jejuni* NCTC 11168 la estructura de los lipooligosacáridos es semejante a la estructura de los gangliósidos GM2 y GM1 en el humano y es un resultado del cambio de fase en la expresión del gen *wlaN*, que codifica la β -1,3-galactosiltransferasa (Linton *et al.*, 2000). En la cepa de *C. jejuni* 81-176, el cambio en la expresión de fase del gen *ctgA* se encuentra asociado a la conversión de los lipooligo-



Carril 1: Marcadores de peso molecular.
Carril 2: *Citrobacter* sp. Carril 3-5: *E. coli*.
Carril 6-8: *Salmonella* sp

Figura 3. Perfiles electroforéticos (SDS-PAGE) del LPS de Enterobacterias. La migración electroforética del LPS se asocia al número y tamaño de unidades repetidas del oligosacárido a lo largo de la cadena del LPS, de tal manera que cada banda electroforética que se observa representa una molécula de lípido A-núcleo substituida, con variaciones (incrementos o decrementos) de una unidad-O adicional, así el tamaño de la unidad O determina la migración de cada banda. Las formas lisas del LPS presentan un patrón de escalera, específico de cepa.

sacáridos, de una estructura semejante a la de GM2 a una estructura que ahora presenta semejanza a GM1 (Guerry et al., 2002; Müller et al., 2007).

La fosforilcolina (Chop) es un componente inusual de procariontes que se expresa sobre la superficie de algunos patógenos bacterianos que infectan el tracto respiratorio superior. En *H. influenzae*, Chop está asociada al cambio de fase en la expresión del gen *licA* que codifica una cinasa. Chop modifica la porción oligosacárida del LPS y altera la superficie bacteriana originando un mimetismo molecular con los lípidos de membrana de las células del huésped, permitiendo que el microorganismo en la mucosa nasofaríngea presente resistencia al péptido antimicrobiano LL-37/hCAp18 a concentraciones bactericidas (Lysenko et al., 2000; Schweda et al., 2000).

4.2.2. Ligasa del antígeno O

Se sabe que *Salmonella typhimurium* presenta variación de fase de cepas no adhesivas a cepas adhesivas. Las cepas con fenotipo adhesivo se adhieren al enterocito y rápidamente son fagocitadas por los neutrófilos y los macrófagos y una vez fagocitadas pueden sobrevivir dentro de la célula, mientras que las células de fenotipo no adhesivo mueren rápidamente. El efecto del interruptor de variación de fase puede observarse por la inducción de cambios en la morfología colonial y la presencia de 10 a 15 proteínas en la cubierta de la célula de fenotipo adhesivo. Mutantes de células de fenotipo adhesivo fueron seleccionadas para identificar mutantes que pierden una o más de estas proteínas; una mutante en el gen *rfaL* (ligasa de antígeno O) demostró que la expresión del antígeno O presenta variación de fase. Las cepas adhesivas expresaron un antígeno O en concentraciones ocho veces superior a las cepas no adhesivas (Kwan e Isaacson, 1998).

4.2.3. Desfasamiento de las cadenas de DNA

4.2.3.1. El papel de secuencias repetidas de DNA en la adaptación de bacterias (locus de contingencia)

A finales de la década de los 80, se reportó en patógenos bacterianos, un tándem de unidades repetidas de DNA en un interruptor fenotípico de variación de fase, asociado a determinantes de superficie celular (Weiser et al., 1989).

En distintos grupos bacterianos se presentan secuencias simples repetidas (SSR), localizadas dentro de regiones promotoras o en marcos de lectura en un grupo de genes que a menudo son llamados *loci* de contingencia, cuya función está asociada indirectamente con estructuras del huésped. El término *locus* de contingencia se refiere a una región del DNA que regula interruptores genotípicos. Los

loci de contingencia bacteriana SSR son interacciones de nucleótidos contiguos, los cuales consisten de unidades repetidas de uno o varios nucleótidos. Estos *loci* de contingencia pueden presentarse en los genes que codifican los lipooligosacáridos de cepas de *H. influenzae*, *N. meningitidis*, *H. pylori* y *Coxiella burnetti*. (Weiser et al., 1995; Lukacova et al., 1993). Las secuencias de nucleótidos repetidas son sensibles a mutaciones que involucran pérdida o ganancia de nucleótidos con probabilidad de originar un desfase de las cadenas del DNA alterando la transcripción por una disminución de la unión de la RNA polimerasa a las regiones promotoras o alterando el marco abierto de lectura en el proceso de traducción y generando variación fenotípica que puede favorecer la adaptación del microorganismo a su ambiente.

En el proceso de replicación del DNA la separación de las cadenas y su realineación pueden originar un cambio conformacional entre las dos cadenas y una falta de alineamiento intermedio, cuando éste se presenta en la cadena que sirve como molde el resultado es una delección de un tándem repetido. Si el desalineamiento se presenta sobre la cadena naciente, el resultado es la adición de una repetición. Si estos SSRs están localizados en marcos abiertos de lectura o en sus regiones promotoras, entonces actúan como interruptores fenotípicos que pueden favorecer la sobrevivencia bacteriana en el ambiente fluctuante del huésped, como ocurre durante el proceso de la infección (Moxon et al., 2006).

4.2.3.2. Conducta adaptativa

La adaptación es la propiedad que poseen los seres vivos de modificar su comportamiento para sobrevivir a una gran variedad de cambios físicos y químicos del ambiente. *Helicobacter pylori* es un patógeno específico de humanos que sobrevive en el ambiente ácido de la mucosa gástrica. Durante el proceso de infección de *H. pylori*, el pH de la mucosa gástrica puede afectar la glicosilación de la cadena del antígeno O (Moran et al., 2002; Nilsson et al., 2006).

La variación de fase del antígeno O de *H. pylori* se ha atribuido a cuatro genes: *futC* que codifica una α -1,2 fucosiltransferasa, *galT* que codifica una β -1,3 galactosiltransferasa y *futA* y *futB* que codifican una α -3 fucosiltransferasa de especificidad diferente (Wang et al., 1999; Appelmek et al., 1999; Appelmek et al., 2000); estos cuatro genes, involucrados en la glicosilación de la cadena del antígeno O, tienen dentro de sus marcos abiertos de lectura una región homopolímera de citosina. El número de residuos de citosina en cada secuencia puede variar como una consecuencia del desfase de las cadenas de DNA y esto origina que en la traducción el codón de inicio quede fuera del marco de lectura. Como consecuencia de este mecanismo *H. pylori*

expresa cambios en la estructura del antígeno O que pueden variar de una generación a otra (Langdon *et al.*, 2005).

La proteínas a 1,3-FucT, FutA y FutB, contienen en el carboxilo terminal de su cadena una región en tándem repetida con un número variable de una secuencia de 7aa, DD/NLRV/INY. Los cambios en el número de repeticiones se relacionan con la longitud del polímero del antígeno O decorado por residuos de fucosa.

Durante una infección persistente, *H. pylori* evade la respuesta inmune y se adapta al ambiente del huésped debido a que este microorganismo tiene la capacidad de expresar variabilidad en los antígenos Lewis (Le) de grupo sanguíneo. El modo sofisticado de generar diversidad del antígeno de Le constituye una forma importante por medio del cual *H. pylori* logra la colonización y permanencia por periodos sumamente largos, en ocasiones por toda la vida del huésped (Nilsson *et al.*, 2006). La expresión de los antígenos Le está sujeta a variación de fase, lo cual promueve en la estructura del antígeno O variación intra-cepa; por otra parte se ha postulado que la variación de Le^x y Le^y en *H. pylori* puede ayudar a la bacteria a adaptarse a su nicho ecológico (Tabla 1).

H. pylori es capaz de evadir el efecto aglutinante de la proteína surfactante D que se expresa en la mucosa gástrica y es un componente de la respuesta inmune innata. El microorganismo impide la unión de la proteína surfactante a través de la variación de su LPS, este fenómeno está asociado a cambios en la fucosilación de la cadena del antígeno O, que es concomitante con el desalineamiento por desfaseamiento de las cadenas del DNA en el gene *poliC* de la fucosiltransferasa A (Khamri *et al.*, 2005).

5. SEROCONVERSIÓN

El impacto de sustituciones no estequiométricas en el antígeno O es un fenómeno estudiado ampliamente en *Salmonella* y *Shigella*, donde la adición de grupos acetilo o residuos de glucosa generan nuevos serotipos O, evento conocido como seroconversión.

Los bacteriófagos pueden conferir un fenotipo particular a su huésped y esto desempeña un papel crucial en la evolución de bacterias patógenas; en células permisibles, los bacteriófagos temperados pueden iniciar dos tipos de infecciones diferentes: la infección lítica o la lisogénica. En muchos casos, el fago temperado altera el fenotipo de las células lisogénicas originando la expresión de antígenos de superficie modificados (Markine-Goriaynoff *et al.*, 2004).

La conversión de serogrupo puede ocurrir en un solo paso como un intercambio de fragmentos largos de DNA. El *crossover* (intercambio entre cadenas) se localiza en regiones de homología común para otros serogrupos, que flanquean secuencias que codifican serogrupos específicos. La seroconversión en cepas de *Vibrio cholerae* puede ser inducida en un ambiente natural, como la biocapa de N-acetilglucosamina, la cual induce un cambio de serogrupo entre cepas de *V. cholerae*. La presencia en el mismo locus cromosomal de diferentes grupos de genes que codifican al antígeno O y la presencia de regiones homólogas, apoyan la hipótesis de un evento de transferencia horizontal de genes. Esto puede presentarse como una transformación natural entre dos cepas de diferentes serogrupos. Esto nos indica que la combinación de factores genéticos y ecológicos pueden favorecer la aparición de nuevos patógenos con capacidad para causar brotes epidemiológicos (Blokesch y Schoolnik, 2007).

La transferencia horizontal del grupo de genes que codifican el antígeno O generalmente involucra secuencias conservadas que los flanquean y que funcionan como un blanco de recombinación (Plainvert *et al.*, 2007).

Se ha demostrado la participación de secuencias de inserción (IS) en la transferencia lateral de genes que codifican para el antígeno O y en la aparición de la cepa patógena de *V. cholerae* O139 vía la transferencia de genes de *Yersinia kristensenii* (Cuneen y Reeves, 2007; Bik *et al.*, 1995).

www.medigraphic.org.mx

Tabla 1. Genes involucrados en la variación de fase.

Género y especie	Fenotipo	Gen	Enzima	Referencia
<i>C. jejuni</i>	Modificación del lipooligosacárido	<i>wlaN ctgA</i>	β-1,3- galactosiltransferasa	Linton <i>et al.</i> , 2000 Guery <i>et al.</i> , 2002
<i>H. influenzae</i>	Modificación del lipooligosacárido ChoP	<i>licA</i>	Cinasa	Schweda <i>et al.</i> , 2000
<i>S. typhimurium</i>	Modificación del antígeno O	<i>rfaL</i>	Ligasa del antígeno O	Kwan y Isaacson, 1998
<i>H. pylori</i>	Modificación del antígeno de Lewis	<i>futC</i>	α-1,2 fucosiltransferasa	Wang <i>et al.</i> , 1999
<i>H. pylori</i>	Modificación del antígeno de Lewis	<i>futA</i> y <i>futB</i>	α-3 fucosiltransferasa de especificidad diferente	Appelmek <i>et al.</i> , 1999
<i>H. pylori</i>	Modificación del antígeno de Lewis	<i>galT</i>	β-1,3 galactosiltransferasa	Appelmek <i>et al.</i> , 2000
<i>H. pylori</i>	Modificación del antígeno de Lewis	<i>futC</i> , <i>galT</i> , <i>futA</i> y <i>futB</i>	Glicosiltransferasas	Langdon <i>et al.</i> , 2005

5.1. Glicosiltransferasas codificadas por bacteriófagos temperados

Shigella flexneri modifica su serotipo durante el proceso de infección viral y los factores responsables de la conversión del serotipo son codificados por fagos temperados. Estos fagos son morfológicamente diversos y pertenecen a varias familias de virus, que presentan características comunes en la organización de los genes de las glicosiltransferasas. Estos genes se organizan en grupo y están localizados corriente abajo del sitio de unión del fago *attP*, seguido de los genes *int* y *xis* que codifican la integrasa y una excisionasa respectivamente (Allison y Verma, 2000).

Los bacteriófagos SfI, SfII, SfV, SfX y SfIV expresan glicosiltransferasas responsables de la conversión del serotipo Y al serotipo 1a, 2a, 5a, X y 4a, respectivamente (Adhikari *et al.*, 1999; Guan *et al.*, 1999; Allison y Verma, 2000; Adams *et al.*, 2001; Allison *et al.*, 2002).

Los fagos temperados codifican tres genes que regulan el proceso de glicosilación: *gtrA*, *gtrB* y una glicosiltransferasa específica de serotipo [*gtr*(tipo)]. Los productos de la expresión de estos genes son proteínas integrales de membrana llamadas GtrA, GtrB y Gtr (tipo), respectivamente (Allison y Verma, 2000). Las dos primeras proteínas son conservadas y son intercambiables entre los serotipos, mientras que la tercera es serotipo-específica. GtrB cataliza la transferencia de grupos glucosilo desde UDP-glucosa al lípido de membrana UndP. GtrA transloca la UndP-glucosa a través de la membrana y GtrII une el grupo glucosilo a la ramnosa III de la unidad repetida del antígeno O vía el enlace α 1, 4, convirtiendo el serotipo Y en serotipo 2a (Mavris *et al.*, 1997).

El gen *gtrA* está conservado entre los serotipos y codifica una proteína de 120 aa. GtrA es una proteína transmembranal con el amino y el carboxilo terminal orientados hacia el citosol. Guan y colaboradores (1999) propusieron que la proteína GtrA es una translocasa que transporta al precursor UndP-glucosa desde el citoplasma al periplasma para que la proteína Gtr-(tipo) ensamble los residuos de la glucosa a la unidad de ramnosa confiriendo serotipos específicos.

Por otro lado, GtrB es una proteína conservada entre serotipos que difieren en la secuencia de 20 aa. El gen *gtrB* codifica una bactoprenol glicosiltransferasa que cataliza la transferencia de glucosa desde UDP-glucosa a bactoprenol fosfato en el citoplasma para formar UndP- β -glucosa. Esta estructura es entonces transportada por GtrA al periplasma (Allison y Verma, 2000).

El *gtr*(tipo) es el tercer gen involucrado en la seroconversión. GtrII tiene nueve hélices transmembranales, una asa y tres regiones periplasmáticas largas, en la conservación de estas conformaciones se han identificado cuatro residuos críticos (Glu40, Phe414, Cys435 y Lys478) en dos de las

regiones periplasmáticas y tres de estos residuos son conservados (Lehane *et al.*, 2005).

La estructura más variable del dominio carboxilo terminal de las proteínas Gtr puede determinar cuál azúcar del antígeno O debe modificarse. En contraste, el ácido glutámico identificado en el asa periplasmática del carboxilo terminal es un elemento posiblemente conservado en el mecanismo de acción de las proteínas Gtr. Este residuo de ácido glutámico puede catalizar la adición de grupos glucosilo al antígeno O (Lehane *et al.*, 2005). Muchas glicosiltransferasas usan ácido glutámico y ácido aspártico para intervenir en la desprotonación del grupo hidroxilo nucleofílico de los azúcares aceptores (Unligil y Rini, 2000). Todas estas proteínas usan UndP- β -glucosa, lo que sugiere que por lo menos un dominio interactúa con el sustrato común. Mecanismos similares en el grupo de genes de glicosilación *gtrA-gtrB-gtr*(tipo) se han observado en otras bacterias como *Salmonella* spp y *Salmonella* fagotipo ϵ^{15} y ϵ^{34} (Vander Byl y Kropinski, 2000).

5.2. Acetilación de los epítopes del antígeno O

La acetilación del antígeno O es una forma común de modificación del polisacárido O. Slauch y colaboradores (1995) demostraron en estudios *in vivo* e *in vitro*, que el reconocimiento del LPS por anticuerpos monoclonales es afectado por la acetilación del antígeno O en la molécula de abecucosa. Estos autores sugirieron que la acetilación del antígeno O afecta la estructura tridimensional de la molécula y modifica o destruye la conformación de determinantes antigénicos. La O-acetilación de residuos de abecucosa en *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* es dependiente del gen *oafA*. La secuencia del gen *oafA*, contiene un marco abierto de lectura que codifica a una proteína de membrana que modifica las subunidades del antígeno O. La proteína OafA muestra homología con un número de proteínas involucradas en la acetilación de moléculas de carbohidratos en una variedad de células procariontes y esto define a una familia de transacetilasas de membrana.

El hecho de que el antígeno O sea sintetizado en la cara citosólica de la membrana y que OafA es una proteína de membrana involucrada en la acetilación del antígeno O, permite sugerir que OafA actúa sobre los monómeros del antígeno O, acetilando el grupo hidroxilo de la molécula de abecucosa antes de ser translocado (Slauch *et al.*, 1996). En muchos patógenos bacterianos, la acetilación define el fenotipo del antígeno O, lo cual tiene consecuencias importantes en la respuesta inmune del huésped durante el proceso de infección (Newton *et al.*, 2001).

Una acetiltransferasa-O caracterizada en cepas de *Shigella flexneri*, es codificada por el bacteriófago Sf6; durante la lisogenia el fago expresa una O-acetiltransferasa responsa-

ble de la acetilación del tercer residuo de ramnosa de la unidad tetrasacárida del antígeno O y por consecuencia la conversión del serotipo Y al serotipo 3b (Verma *et al.*, 1991). La acetil-CoA es el donador para la acetilación de la unidad del antígeno O lo que sugiere que la reacción se lleva a cabo en el citoplasma.

El antígeno O de *Pseudomonas aeruginosa* es acetilado por el fago lisogénico D3, originando la seroconversión de O5 a O16. El proceso de O-acetilación es complejo y requiere de AlgI, una proteína con siete dominios transmembranales; AlgI es una proteína de membrana tipo II y AlgF es una proteína periplasmática, la localización de estas proteínas sugiere que la modificación del polímero es posterior al transporte de los grupos acetilo al periplasma. Homólogos al gen *alg1* y a los genes que codifican proteínas tipo II presentan un patrón de genes en mosaico, sugiriendo que los componentes individuales de la secuencia de multigenes, así como el cassette total, involucran transferencia lateral de genes (Franklin *et al.*, 2004).

5.3. Islas de patogenicidad

La adquisición de características de virulencia a través de la transferencia lateral de genes puede ocurrir a una frecuencia alta a través del contacto del microorganismo con su ambiente, incluyendo el del huésped. En bacterias patógenas, el evento de transferencia lateral de genes se ha observado frecuentemente en regiones genómicas denominadas Islas de Patogenicidad que agrupan a genes de virulencia en regiones discretas, en estas Islas se ha observado la localización de genes que codifican funciones involucradas en la biosíntesis del LPS (Thompson *et al.*, 2004).

Los genes para la determinación del antígeno O serotipo 1 de *S. flexneri* se localizan en una Isla de Patogenicidad llamada SHI-O (Ingersoll *et al.*, 2002). El orden y la composición de los genes indican que esta Isla es derivada de un bacteriófago temperado, esta Isla de Patogenicidad contiene tres marcos de lectura cuyos productos portan secuencias de alta identidad a glucosiltransferasas de bacteriófago asociadas a seroconversión en bacterias. (Allison y Verma, 2000).

La hipervariabilidad del locus LPS entre diferentes cepas de patógenos de plantas como el grupo *Xanthomonas* indica que eventos de transferencia lateral de genes ocurren en este locus. La secuencia completa de 12.2 kb del locus de virulencia de *Xanthomonas oryzae* codifica seis genes cuyos productos son homólogos a la función involucrada en la biosíntesis y transporte del LPS. Todos los marcos abiertos de lectura tienen un contenido atípico de G+C y tienen alterado el codón de uso, los cuales son marcadores de Islas genómicas (Patil y Sonti, 2004). Se han reportado tres elementos IS en el agrupamiento de genes que sugieren que pudiesen

estar involucrados en la promoción de eventos de recombinación y regulación de los genes (Reeves y Wang, 2002).

6. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DEL LPS

Entre los componentes de superficie de las bacterias Gram negativas el LPS es un factor importante en la virulencia bacteriana y es el responsable de algunas de las patofisiologías asociadas a las infecciones causadas por estos microorganismos en animales y humanos. El LPS, en los sitios locales de la infección, es el blanco primario de las células que participan en la respuesta inmune innata y estimula la liberación de mediadores proinflamatorios como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), la interleucina 6 (IL-6) y la interleucina 1 β (IL-1 β). En niveles moderados, el LPS beneficia al huésped por promover la inflamación y preparar al sistema inmune para eliminar al organismo invasor; sin embargo, en una infección generalizada el LPS accede al torrente sanguíneo originando una respuesta inflamatoria y choque séptico que pueden conducir a la muerte del huésped infectado (Opal *et al.*, 1999).

El antígeno O es la parte inmunodominante del LPS y por lo tanto es el blanco más importante para la respuesta humoral por parte del huésped, por esta razón es la base de la tipificación serológica de las bacterias Gram negativas. El antígeno O es reconocido por la respuesta inmune innata y participa de manera importante en la activación del Complemento e inhibición de la formación del complejo de ataque a membrana (Erridge *et al.*, 2002; Lerouge y Vanderleyden, 2001).

El antígeno O juega un papel importante en la protección contra mecanismos inmunes del huésped. El antígeno O «corto» de cepas sensibles a suero se asocia a un incremento en la interacción del factor C3 con la membrana bacteriana. En un modelo murino de infección utilizando cepas mutantes de *Bordetella parapertussis*, Goebel y colaboradores demostraron que el antígeno O permite la colonización eficiente del tracto respiratorio inferior del ratón, proporcionando resistencia a la actividad lítica del Complemento previniendo la interacción de la fracción C3 del complemento sobre la superficie bacteriana (Goebel *et al.*, 2008).

En *Bordetella pseudomallei* las moléculas del antígeno O están involucradas en la invasión y sobrevivencia del microorganismo en el macrófago. *B. pseudomallei* es capaz de resistir a la actividad de lisis celular posterior a la fagocitosis e incluso estimula la formación de células gigantes induciendo la fusión celular, lo que permite la diseminación bacteriana en el huésped infectado. Mutantes de *B. pseudomallei* que han perdido el antígeno O del LPS son más susceptibles a la fagocitosis que las cepas silvestres. Las cepas mutantes que infectan el macrófago son capaces de sobreregular la producción de IFN- β , el cual puede actuar como un regu-

lar paracrino modulando la activación de varios factores de transcripción incluyendo IRF-1 y Y701-STAT-1 fosforilado, requeridos para la expresión de iNOS; así, las cepas mutantes en LPS pueden activar la expresión de iNOS a través de la producción de IFN- β (Arjcharoen *et al.*, 2007).

El antígeno O de *E. coli* enteropatógena extraintestinal (ExPEC) modula las respuestas proinflamatorias en macrófagos aislados de pulmón de rata con neumonía experimental, atenuando la producción de mediadores inflamatorios como TNF- α , IL-1 β y CINC-1 y disminuyendo la generación posterior de quimiocinas por TNF- α (Russo *et al.*, 2007).

7. CONCLUSIONES

Se ha demostrado una gran variabilidad en el LPS y principalmente en el antígeno O de las bacterias Gram negativas, esta variabilidad se presenta tanto en la longitud de las cadenas oligosacáridas como en la composición y estructura del LPS.

Distintos autores han demostrado que la variabilidad en la composición y estructura se asocia significativamente a variaciones en la funcionalidad del LPS y en las capacidades de la bacteria de sobrevivir y adaptarse a ambientes cambiantes, en muchas ocasiones hostiles al microorganismo.

La variabilidad del LPS puede ser derivada de adaptaciones que involucran cambios en la modulación del metabolismo bacteriano y cambios en la información genética asociada a la síntesis de esta biomolécula.

La ganancia o pérdida de genes asociados a la variabilidad del LPS se debe a eventos de intercambio de material genético por transferencia lateral de genes (seroconversión) y variación de fase (SSR), lo que lleva a la selección de cepas con características nuevas y a la evolución bacteriana a través de la modificación de esta estructura.

Uno de los aspectos más importantes de la función del LPS es su participación como molécula inmunogénica y su papel en la clasificación bacteriana basada en los antígenos O y en su variabilidad. En general se ha visto que las modificaciones del antígeno O desempeñan un papel importante en el proceso de infección incluyendo la adherencia, la colonización y la habilidad de evadir los mecanismos de defensa del huésped, principalmente la resistencia innata.

El estudio de los eventos de variación del LPS y sus efectos sobre la patogenicidad y virulencia representan un campo de estudio de gran interés para comprender la fisiología bacteriana y sus mecanismos de adaptación y evolución.

El LPS es una de las principales estructuras antigénicas de la cubierta celular de las bacterias Gram negativas. La inmunogenicidad y la variabilidad del antígeno O le confiere a las bacterias Gram negativas una característica importante para su tipificación serológica. El antígeno O

está sujeto a una intensa selección por parte del sistema inmune, el cual puede ser el principal factor de las diferentes formas en las que se presenta el antígeno O. Por esta razón la variabilidad del antígeno O ha sido un área de intensa investigación. Muchas de las funciones del antígeno O están asociadas a la longitud de su cadena y a la variabilidad de sus rasgos estructurales; esta variabilidad puede afectar la función, las propiedades fisicoquímicas y los sitios blanco del LPS, lo cual determina cambios en la virulencia del microorganismo que favorecen su adaptación al ambiente fluctuante, permitiendo la evasión de la respuesta inmune del huésped. La variación de la estructura del antígeno O ha demostrado que su composición y la longitud de su cadena pueden ser marcadores biológicos de virulencia y esta característica a menudo difiere dentro de la misma cepa bacteriana.

REFERENCIAS

1. Adams, M., G. Allison & N. Verma. 2001. Type IV O antigen modification genes in the genome of *Shigella flexneri* NCTC 8296. *Microbiology*. 147:851–860.
2. Adhikari, P., G. Allison, B. Whittle & N. Verma. 1999. Serotype 1a O-Antigen modification: Molecular characterization of the genes involved and their novel organization in the *Shigella flexneri* chromosome. *J Bacteriol*. 181:4711–4718.
3. Allison, G., D. Angeles, N. Tran - Dinh & N. Verma. 2002. Complete genomic sequence of SfV, a serotype-converting temperate bacteriophage of *Shigella flexneri*. *J Bacteriol*. 184:1974–1987.
4. Allison, G. & N. Verma. 2000. Serotype-converting bacteriophages and O-antigen modification in *Shigella flexneri*. *Trends Microbiol*. 8:17–23.
5. Appelmelk, B. J., M. C. Martino & E. Veenhof. 2000. Phase variation in H type I and Lewis a epitopes of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Infect Immun*. 68: 5928–5932.
6. Appelmelk, B., S. Martin, M. Monteiro, Ch. Clayton, A. Mccolm, P. Zheng, T. Verboom, J. Maaskant, D. van den Eijnden, C. Hokke, M. Perry, Ch. Vandenbroucke-Grauls & J. Kusters. 1999. Phase variation in *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide due to changes in the lengths of poly(C) tracts in alpha 3-fucosyltransferase genes. *Infect Immun*. 67:5361–5366.
7. Appelmelk, B., B. Shiberu, C. Trinks, N. Tapsi, P. Zheng, T. Verboom, J. Maaskant, C. Hokke, W. Schiphorst, D. Blanchard, I. Simoons-Smit, D. van den Eijnden & C. Vandenbroucke-Grauls. 1998. Phase variation in *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Infect Immun*. 66: 70–76.
8. Arjcharoen, S., C. Wikraiphat, M. Pudla, K. Limposuwan, D. Woods, S. Sirisinha & P. Utaisincharoen. 2007. Fate of a *Burkholderia pseudomallei* lipopolysaccharide mutant in the mouse macrophage cell line RAW 264.7: possible role for the O-antigenic polysaccharide moiety of lipopolysaccharide in internalization and intracellular survival. *Infect Immun*. 75: 4298–4304.
9. Bik, E., A. Bunschoten, R. Gouw & F. Mooi. 1995. Genesis of the novel epidemic *Vibrio cholerae* O139 strain: evidence for horizontal transfer of genes involved in polysaccharide synthesis. *EMBO J*. 14:209–216.
10. Blokesch, M., & G. Schoolnik. 2007. Serogroup conversion of *Vibrio cholerae* in aquatic reservoirs pathogens. *PLoS Pathog*. 3: e81 doi:10.1371/journal.ppat.0030081
11. Caroff, M., & D. Karibian. 2003. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr Res*. 338:2431–2447.

12. Carter, J., C. Blondel, M. Zaldívar, S. Álvarez, C. Marolda, M. Valdano, & I. Contreras. 2007. O-antigen modal chain length in *Shigella flexneri* 2a is growth-regulated through RfaH-mediated transcriptional control of the *wzy* gene. *Microbiology*. 153:3499–3507.
13. Cunneen, M., & P. Reeves. 2007. The *Yersinia kristensenii* O11 O-antigen gene cluster was acquired by lateral gene transfer and incorporated at a novel chromosomal locus. *Mol Biol Evol*. 24:1355–1365.
14. Cuthbertson, L., M. Kimber & Ch. Whitfield. 2007. Substrate binding by a bacterial ABC transporter involved in polysaccharide export. *PNAS*. 104:19529–19534.
15. Daniels, C., & R. Morona. 1999. Analysis of *Shigella flexneri* Wzz (Rol) function by mutagenesis and cross-linking: Wzz is able to oligomerize. *Mol Microbiol*. 34:181-194.
16. Dixon, D., & R. Darveau. 2005. Lipopolysaccharide heterogeneity: Innate host responses to bacterial modification of lipid A structure. *J Dent Res*. 84: 584-595.
17. Erridge, C., Bennett-Guerrero E & I. Poxton. 2002. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes Infect*. 4: 837–851.
18. Fälker, S., A. Schmidt & Heusipp. 2007. Overproduction of DNA adenine methyltransferase alters motility, invasion, and the lipopolysaccharide O-antigen composition of *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun*. 75:4990–4997.
19. Franco, V., & P. Reeves. 1998. The Wzz (Cld) protein in *Escherichia coli*: amino acid sequence variation determines O antigen chain length specificity. *J Bacteriol*. 180:2670–2675.
20. Franklin, M., S. Douthit & M. McClure. 2004. Evidence that the *algI/algJ* gene cassette, required for O acetylation of *Pseudomonas aeruginosa* alginate, evolved by lateral gene transfer. *J Bacteriol*. 186:4759–4773.
21. Gibson, J., H. Chart & R. Owen. 1998. Intra-strain variation in expression of lipopolysaccharide by *Helicobacter pylori*. *Lett Appl Microbiol*. 26:399–403.
22. Goebel, E., D. Wolfe, K. Elder, S. Stibitz & E. Harvill. 2008. O antigen protects *Bordetella parapertussis* from complement. *Infect Immun*. 76:1774–1780.
23. Guan, S., D. Bastin & N. Verma. 1999. Functional analysis of the O antigen glucosylation gene cluster of *Shigella flexneri* bacteriophage SfX. *Microbiology*. 145: 1263–1273.
24. Guard-Petter, J., L. Keller, M. Rahman, R. Carlson, & S. Silvers. 1996. O-antigen variation, matrix formation, and virulence of *Salmonella enteritidis*. *Epidemiol Infect*. 117: 219–231.
25. Guard-Petter, J., C. Parker & R. Carlson. 1999. Clinical and veterinary isolates of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* defective in lipopolysaccharide O-chain polymerization. *Appl Environ Microbiol*. 65:2195-2201.
26. Guerry, P., C. Szymanski, M. Prendergast, T. Hickey, C. Ewing, D. Pattarini & A. Moran. 2002. Phase variation of *Campylobacter jejuni* 81–176 lipooligosaccharide affects ganglioside mimicry and invasiveness *in vitro*. *Infect Immun*. 70:787–793.
27. Ingersoll, M., E. Groisman & A. Zychlinsky. 2002. Pathogenicity islands of *Shigella*. *Curr Top Microbiol Immunol*. 264:49–65.
28. Keenleyside, W., & C. Whitfield. 1999. Genetics and biosynthesis of lipopolysaccharide O-antigens. pp.331-358. In H. Brade, S. M. Opal, S. N. Vogel, D. C. Morrison (Eds). *Endotoxin in health and disease*, Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
29. Khamri, W., A. Moran, M. Worku, M. Q. Karim, M. Walker, H. Annuk, J. Ferris, P. Appelmek, K. Reid & M. R. Thurz. 2005. Variations in *Helicobacter pylori* lipopolisaccharide to evade the innate component surfactant protein D. *Infect Immun*. 73: 7677-7686.
30. Kwan, L., & R. Isaacson. 1998. Identification and characterization of a phase-variable nonfimbrial *Salmonella typhimurium* gene that alters O-antigen production. *Infect Immun*. 66: 5725–5730.
31. Langdon, R., J. Craig, M. Goldrick & R. Houldsworth. 2005. Analysis of the role of HP0208, a phase-variable open reading frame, and its homologues HP1416 and HP0159 in the biosynthesis of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *J Med Microbiol*. 54:697–706.
32. Lawson, A., H. Chart, M. Dassama & E. Threlfall. 2002. Heterogeneity in expression of lipopolysaccharide by strains of *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* definitive phage type 104 and related phage types. *Lett Appl Microbiol*. 34:428–432.
33. Lehan, A., H. Korres & N. Verma. 2005. Bacteriophage-encoded glucosyltransferase GtrII of membrane topology and identification of critical residues. *Biochem J*. 389:137–143.
34. Lerouge, I., & J. Vanderleyden. 2001. O-antigen structural variation: mechanisms and possible roles in animal/plant-microbe interactions. *FEMS Microbiol Rev*. 26:17-47.
35. Linton, D., M. Gilbert, P. G. Hitchen, A. Dell, H. R. Morris, W. Warkachuk, N. Gregson & B. W. Wren. 2000. Phase variation of a β -1,3-galactosyltransferase involved in generation of the ganglioside GM1-like lipo-oligosaccharide of *Campylobacter jejuni*. *Mol Microbiol*. 37:501–514.
36. Lukacova, M., J. Kazar, E. Gajdosova & M. Vavrekova. 1993. Phase variation of lipopolysaccharide of *Coxiella burnetii*, strain Priscilla during chick embryo yolk sac passaging. *FEMS Microbiol Lett*. 113:285-289.
37. Lysenko, J., J. Gould, R. Bals, J. Wilson & J. Weiser. 2000. Bacterial phosphorylcholine decreases susceptibility to the antimicrobial peptide LL-37/hCAP18 expressed in the upper respiratory tract. *Infect Immun*. 68:1664–1671.
38. Markine-Goriaynoff, N., L. Gillet, J. van Etten, H. Korres, N. Verma, & A. Vanderlasschen. 2004. Glycosyltransferases encoded by viruses. *J Gen Virol*. 85: 2741–2754.
39. Mavris, M., P. Manning & R. Morona. 1997. Mechanism of bacteriophage SfII-mediated serotype conversion in *Shigella flexneri*. *Mol Microbiol*. 26:939–950.
40. Moran, A. P., A. Yuriy, Y. Knirel, S. Senchenkova, G. Widmalm, S. Hynes & P. Per-Erik. 2002. Phenotypic variation in molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides and human gastric epithelial cell surface glycoforms. Acid-induced phase variation in Lewis^x y Lewis^y expression by *H. pylori* lipopolysaccharide. *J Biol Chem*. 277:5785–5795.
41. Morschhauser, J., G. Kohler, W. Ziebuhr, G. Blum-Oehler, U. Dobrindt & J. Hacker. 2000. Evolution of microbial pathogens. *Phil Trans R Soc Lond Biol Sci*. 355:695-704.
42. Moxon, R., Ch. Bayliss & D. Hood. 2006. Bacterial contingency loci: The role of simple sequence DNA repeats in bacterial adaptation. *Annu Rev Genet*. 40:307–33.
43. Müller, J., B. Meyer, I. Hänel & H. Hotzel. 2007. Comparison of lipooligosaccharide biosynthesis genes of *Campylobacter jejuni* strains with varying abilities to colonize the chicken gut and to invade Caco-2 cells. *J Med Microbiol*. 56:1589–1594.
44. Najdenski, H., E. Golkocheva, A. Vesselinova, J. Bengoechea & M. Skurnik. 2003. Proper expression of the O-antigen of lipopolysaccharide is essential for the virulence of *Yersinia enterocolitica* O:8 in experimental oral infection of rabbits. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 38:97–106.
45. Newton, G., C. Daniels, L. Burrows, A. Kropinski, A. Clarke & J. Lam. 2001. Three-component-mediated serotype conversion in *Pseudomonas aeruginosa* by bacteriophage D3. *Mol Microbiol*. 39:1237-1247.
46. Nikaido, H. 1996. Outer membrane. pp.29-47. In F. C. Neidhardt (Ed). *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology*, 2nd ed. ASM Press. Washington, DC.
47. Nilsson, Ch., A. Skoglund, P. Moran, H. Annuk & S. Normark. 2006. An enzymatic ruler modulates Lewis antigen glycosylation of *Helicobacter pylori* LPS during persistent infection. *PNAS*. 103: 2863-2868.
48. Olson, M., A. Kas, K. Bubb, R. Qui, E. Smith, K. Raymond & R. Kaul. 2004. Hypervariability, suppressed recombination and the genetics of individuality. *Phil Trans R Soc Lond Biol Sci*. 359:129–140.
49. Opal, S., P. Scannon, J. Vincent, M. White, S. Carroll, J. Palardy, N. Parejo, J. Pribble & J. Lemke. 1999. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J Infect Dis*. 180:1584–1589.

50. Patil, P & R. Sonti. 2004. Variation suggestive of horizontal gene transfer at a lipopolysaccharide (*lps*) biosynthetic locus in *Xanthomonas oryzae* v. *oryzae*, the bacterial leaf blight pathogen of rice. BMC Microbiol. 4:40-53.
51. Plainvert, C., P. Bidet, Ch. Peigne, V. Barbe, C. Médigue, E. Denamur, E. Bingen & S. Bonacorsi. 2007. New O-antigen gene cluster has a key role in the virulence of the *Escherichia coli* meningitis clone O45:K1:H7. J Bacteriol. 189:8528–8536.
52. Preston, A., R. Mandrell, B. Gibson & M. Apicella. 1996. The lipooligosaccharides of pathogenic gram-negative bacteria. Crit Rev Microbiol. 22:139–180.
53. Rahman, M., J. Guard-Petter & R. Carlson. 1997. Virulent isolate of *Salmonella enteritidis* produces a *Salmonella typhi*-like lipopolysaccharide. J Bacteriol. 179:2126–2131.
54. Reeves, P & L. Wang. 2002. Genomic organization of LPS-specific loci. Curr Top Microbiol Immunol. 264: 109–135.
55. Russo, T., B. Davidson, J. Beanan, R. Olson, B. Holm, R. Notter & P. Knight III. 2007. Capsule and O-antigen from an extraintestinal isolate of *Escherichia coli* modulate cytokine levels in rat macrophages in vitro and in a rat model of pneumonia. Experimental Lung Res. 33:337–356.
56. Samuel, G & P. Reeves. 2003. Biosynthesis of O-antigens: genes and pathways involved in nucleotide sugar precursor synthesis and O-antigen assembly. Carbohydr Res. 338:2503-2519.
57. Schweda, E., J. Brisson, G. Alvelius, A. Martin, J. Weiser, D. Hood, E. Moxon & J. Richards. 2000. Characterization of the phosphocholine-substituted oligosaccharide in lipopolysaccharides of type b *Haemophilus influenzae*. Eur J Biochem. 267:3902–3913.
58. Slauch, J., M. Mahan, P. Michetti, M. Neutra & J. Mekalanos. 1995. Acetylation (O-factor 5) affects the structural and immunological properties of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide O-antigen. Infect Immun. 63:437–441.
59. Slauch, J., A. Lee, M. Mahan & J. Melalanos. 1996. Molecular characterization of the *oafA* locus responsible for acetylation of *Salmonella typhimurium* O-antigen: OafA is a member of a family of integral membrane trans-acylases. J Bacteriol. 178:5904–5909.
60. Tang, KH., H. Guo, W. Yi, M-D Tsai & P. Wang. 2007. Investigation of the conformational states of Wzz and the Wzz O-antigen complex under near-physiological conditions. Biochemistry. 46:11744-11752.
61. Thompson, F., T. Lida & J. Swings. 2004. Biodiversity of Vibrios. Microbiol Mol Biol Rev. 68: 403–431.
62. Unligil, U & J. Rini. 2000. Glycosyltransferase structure and mechanism. Curr Opin Struct Biol. 10:510–517.
63. Valvano, M. 2003. Export of O-specific lipopolysaccharide. Front Biosci 8:s452–s471.
64. Vander Byl, C & A. Kropinski. 2000. Sequence of the genome of *Salmonella* bacteriophage P22. J Bacteriol. 182: 6472–6481.
65. van der Woude, M & A. Bäuml. 2004. Phase and antigenic variation in bacteria. Clin Microbiol Rev. 17:581–611.
66. Verma, N., J. Brandt, D. Verma & A. Lindberg. 1991. Molecular characterization of the O-acetyl transferase gene of converting bacteriophage SF6 that adds group antigen 6 to *Shigella flexneri*. Mol Microbiol. 5:71-75.
67. Wang, G., P. Boulton, N. Chan, M. Palcic & D. Taylor. 1999. Novel *Helicobacter pylori* alpha1,2-fucosyltransferase, a key enzyme in the synthesis of Lewis antigens. Microbiology. 145:3245–3253.
68. Weiser, J., S. Chong, D. Greenberg & W. Fong. 1995. Identification and characterization of a cell envelope protein of *Haemophilus influenzae* contributing to phase variation in colony opacity and nasopharyngeal colonization. Mol Microbiol. 17: 555-564.
69. Weiser, J., J. Love & E. Moxon. 1989. The molecular mechanism of phase variation of *H. influenzae* lipopolysaccharide. Cell. 59:657–65.
70. Wu, T., A. McCandlish, L. Gronenberg, S. Chng, T. Silhavy & D. Kahne. 2006 Identification of a protein complex that assembles lipopolysaccharide in the outer membrane of *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci. 103:11754-11759.
71. Vilches, S., R. Canals, M. Wilhelms, M. Saló, Y. Knirel, E. Vinogradov, S. Merino & J. Tomás. 2007 Mesophilic Aeromonas UDP-glucose pyrophosphorylase (GalU) mutants show two types of lipopolysaccharide structures and reduced virulence. Microbiology. 153: 2393–2404.

Correspondencia:

Dr. Víctor Rafael Coria Jiménez

Laboratorio de Bacteriología Experimental

Instituto Nacional de Pediatría

Insurgentes Sur 3,700 – C, Col. Cuicuilco – Insurgentes

México, D. F., 04530, Deleg. Coyoacán

Tel. 1084 – 5532

E-mail: coria.rafael@gmail.com