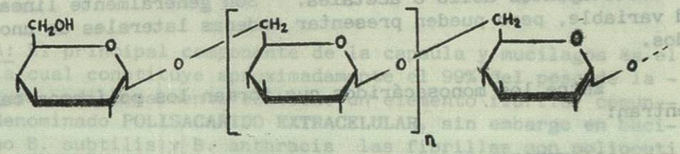
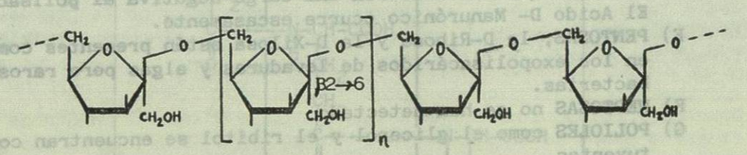
ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS POLIMEROS CAPSULARES

I) HOMOPOLISACARIDOS

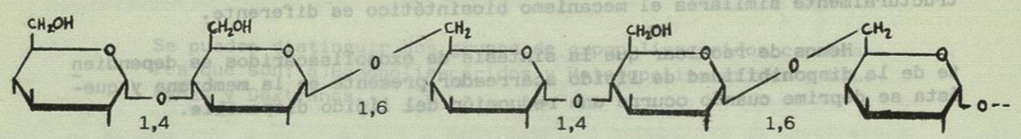
1.-**DEXTRANAS o GLUCANAS:** Polímeros ramificados, con un peso molecular de 10^6 daltones, cuya unidad monomérica es la α -D-glucosa . La cadena la forman entre - 40 o más de 500 residuos. En un polímero del 60 al 90% de los enlaces son alfa 1 - 6, y del 5 al 30% son alfa 1 → 4. Entre los microorganismos que presentan cápsulas de este tipo se encuentran: Leuconostoc mesenteroides, Leuconostoc dextranicum, Pediococcus sp, Streptococcus viridans, Streptococcus bovis (cuya dextrana es no ramificada), Streptococcus mutans (con enlaces α1→8 o α1 →6), - Alcaligenes faecalis (enlaces α1,3, α1,4, α1,6). Agrobacterium tumefaciens, - Agrobacterium rhizogenes, Agrobacterium radiobacter, Agrobacterium rubi poseen glucanas con enlaces β 1 - 2. Rhizobium japonicum presenta glucanas con enlaces β 1-3 y β 1-6.



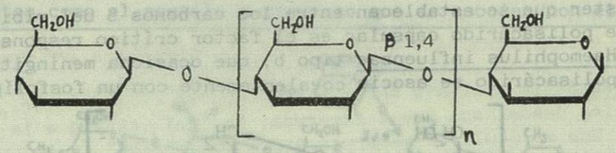
2.-**LEVANAS**: Son polímeros lineales con un peso molecular superior a 10^6 daltones es altamente susceptible a la hidrólisis ácida suave. Ocurre en organismos como Pseudomonas, Xanthomonas, Streptococcus salivarius, Aerobacter sp, Acetobacter sp, Bacillus sp.



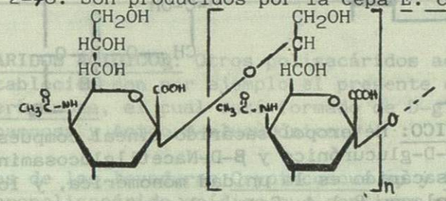
3.-**PULULANA:** Es un polímero lineal compuesto de unidades de maltotriosa entrelazadas por enlaces alfa 1 →6. Cada unidad de maltotriosa esta integrada por 3 unidades de alfa-D-glucosa unidas por enlaces α1→4 , α 1→6, 1→4. Este polímero ocurre en las cápsulas del hongo Pulluraria pullulans.



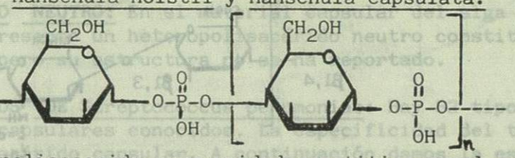
4.-**CELULOSA**: Es un polímero lineal de β-D-glucosa unidas mediante enlaces β 1,4 glucosídicos. En medios de cultivos líquidos las fibrillas de celulosa forman gruesas películas. Las microfibrillas celulósicas le brindan a los microorganismos capsulados una ventaja ayudandolos a flotar cerca de la superficie rica en O_2, ya que generalmente son organismos aeróbicos estrictos como- Acetobacter xylinum, Acetobacter sp. Son aproximadamente 600 residuos los que forman el polímero.



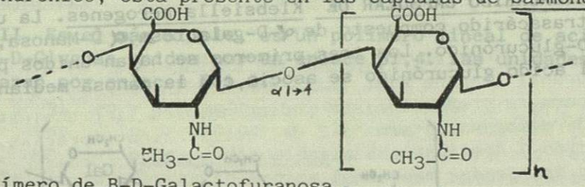
5.-**ACIDO POLISIALICO ó POLISACARIDO CAPSULAR K1 (CPS)**: Es un polisacárido lineal cuyas unidades monoméricas son el acido N-acetil-neuramínico entrelazadas mediante enlaces alfa 2-→8. Son producidos por la cepa E. coli K1 y Neisseria - meningitidis



6.-**FOSFOMANANAS:** Polímeros de manosa , donde los residuos se hayan unidos mediante enlaces fosfodiester. Estos polisacáridos fosforilados ocurren en las capsulas de levaduras como Hansenula holstii y Hansenula capsulata.

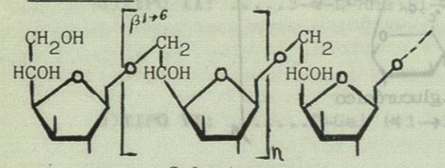


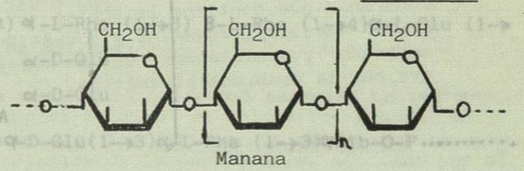
7.-**ANTIGENO Vi:** Es un homopolisacarido cuya unidad repetitiva es el acido N-acetilgalactosaminurónico; está presente en las cápsulas de Salmonella typhimurium.



8.-**GALACTANA:** Polímero de B-D-Galactofuranosa

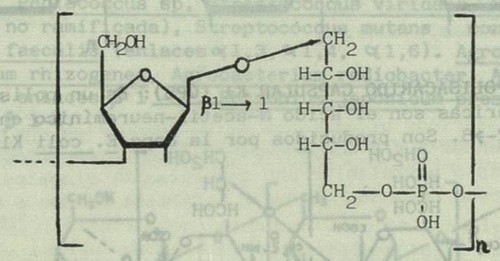
9.-**MANANA:** Polímero de alfa-D-Manosa unidos mediante enlaces α1,4. Tanto la - galactana como la manana están presentes en las cápsulas del hongo Penicillum charlesii.



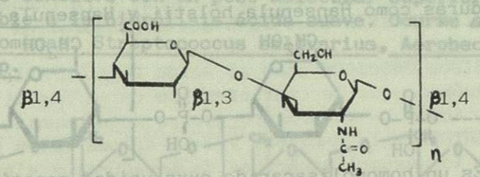


HETEROPOLISACARIDOS

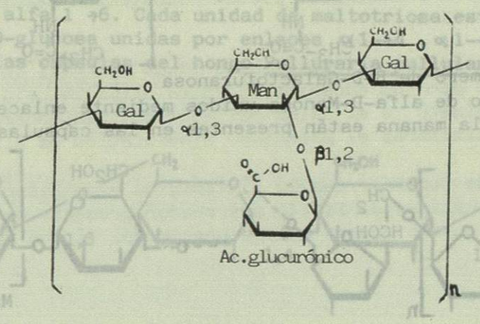
1.-**POLIRIBOSIL-RIBITOL-FOSFATO:** Heteropolisacárido lineal cuya unidad repetitiva es un disacárido integrado por β-D-ribosa y ribitol-5-fosfato unidos por un - enlace glucosídico β 1,1. Los monómeros se entrelazan mediante enlaces fosfodiester que se establecen entre los carbonos 5 del ribitol y C3 de la ribosa. Este polisacárido capsular es el factor crítico responsable de la virulencia- de Haemophilus influenzae tipo b, que ocasiona meningitis bacteriana en niños. El polisacárido se asocia covalentemente con un fosfolípido.



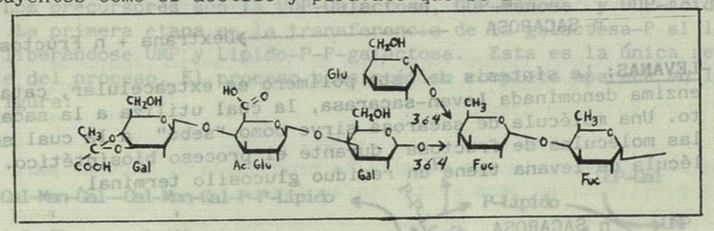
2.-**ACIDO HIALURONICO:** Heteropolisacárido lineal compuesto por unidades alternantes de Acido-β-D-glucurónico y β-D-Nacetilglucosamina unidos por enlaces --- B 1,3. Este disacárido es la unidad monomérica, y los disacáridos se entrelazan mediante enlaces β 1,4. Este polímero se encuentra en las cápsulas de -- Streptococcus pyogenes del grupo A y del grupo C.



3.-**HETEROPOLISACARIDO CAPSULAR DE** Klebsiella aerogenes. La unidad monomérica- es un tetrasacárido compuesto de α-D-galactosa, α D-Manosa, α-D-Galactosa y Acido β-D-glucurónico. Los tres primeros se hayan unidos por enlaces α 1,3 y α 1,3. El acido glucurónico se asocia con la manosa mediante un enlace β1,2



4.- **ACIDO COLANICO:** Polisacárido capsular que contiene β-D-glucosa, β-D-Galactosa, β-D-Fucosa y Acido β-D-Glucurónico en proporciones 1:2:2:1. La es--- tructura propuesta por Lawson et al (1969), Garegg et al (1971) y Suther-- land (1971) para este polisacarido capsular es la que aparece enla figura. Este heteropolisacárido se encuentra en las capsulas de Escherichia coli,- Salmonella typhimurium y Aerobacter cloacae. Aunque los monosacáridos son- los mismos, las variantes entre los acidos colánicos las establecen los -- sustituyentes como el acetilo y piruvato que se asocian con ellos.



5.-**HETEROPOLISACARIDOS ACIDICOS:** Otros polisacáridos acídicos cuya estructura no ha sido establecida son por ejemplo el presente en las capsulas de --- Pseudomonas aeruginosa, el cual está formado de D-glucosa, D-Galactosa, - D-Manosa, L-Rhamnosa y Acido D-glucurónico.

En las capsulas de las levaduras Cryptococcus sp y Cryptococcus laurentii, ocurre un heteropolisacárido acídico que contiene restos de D-Manosa, D-Xilosa, y Acido D-glucurónico.

6.-**HETEROPOLISACARIDO NEUTRO:** En el material capsular del alga Chlamydomonas ulvaensis, está presente un heteropolisacárido neutro constituido de D-Glucosa y D-Xilosa, pero su estructura no se ha reportado.

7.-**HETEROPOLISACARIDOS DE** Streptococcus penumoniae: Hay 82 tipos serológicos de polisacaridos capsulares conocidos. La especificidad del tipo es terminada por el polisacárido capsular. A continuación damos la estructura de - algunos de ellos:

a)**TIPO III.** Es el más simple, es un polímero lineal de acido B-D-glucurónico y B-D-Glucosa unidos por un enlace β1,4. Las unidades repetitivas se- entrelazan por enlaces β 1,3.

b) **TIPO I:** .....Ac-D-Galacturónico---B 1,3→Nacetilglucosamina.....B1--→3.....

c)**TIPO II:** .....3-α-L-Rha (1→3) α-L-Rha (1→3) β-L-Rha (1→4)α-L-Glu (1→
α-D-Glu
α-D-Glu

d)**TIPO VI:** .....2-Gal (α1→3)α-D-Glu(1→3)α-L-Rha (1→3)αRib-O-P.....

BIOSINTESIS DE LOS POLISACARIDOS CAPSULARES

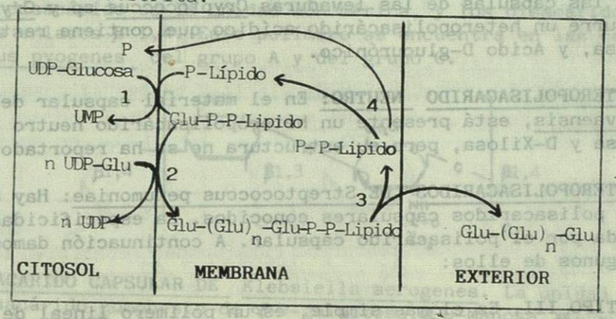
1.-**DEXTRANAS:** La producción de estos polímeros no utiliza Nucleósidos-di-fosfato-azucar como precursores. La sacarosa es el sustrato indispensable para -- una enzima extracelular llamada **Dextransacarasa**, con actividad ramificadora, la cual cataliza la siguiente reacción:

n SACAROSA ----------→Dextrana + n Fructosa

2.-**LEVANAS:** La síntesis de este polímero es extracelular, catalizada por una -- enzima denominada **Levan-sacarasa**, la cual utiliza a la sacarosa como sustrato. Una molécula de sacarosa sirve como "sebo" a la cual se le adicionan -- las moléculas de fructosa durante el proceso biosintético. Por ello, la molécula de levana tiene un residuo glucosilo terminal.

n SACAROSA ----------→ Levana + n Glucosa

3.-**CELULOSA:** La sintesis de este polímero ocurre en la membrana plasmática, requiere de **UDP-glucosa** como donador de glucosilos y de **Lipido Isoprenoide** como acarreador membranal. El mecanismo biosintético se ilustra enseguida. Los oligosacáridos liberados forman microfibrillas involucrando alguna enzima -- extracelular aún no descrita.

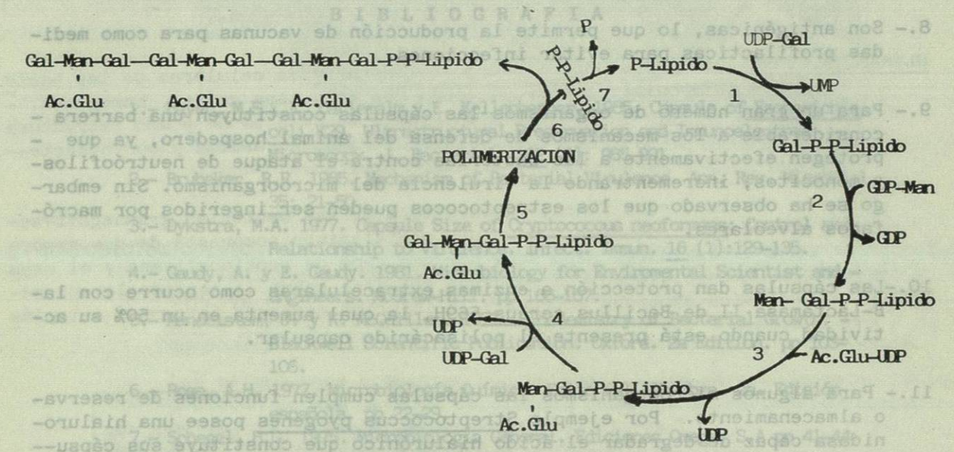


4.-**ACIDO POLISIALICO:** Este polisacárido extracelular es sintetizado por una enzima membranal llamada **SIAL TRANSFERASA.** Sin embargo, Whitfield (1985) encontró que para su producción son indispensables 11 proteinas; 5 de membrana externa, 4 de membrana interna y 2 de localización imprecisa. El precursor es - el CMP-Acido-N-Acetilneuramínico, y el Lipido-P (Undecaprenol-fosfato) participa como acarreador membranal.

5.-**ACIDO HIALURONICO:** In vitro es sintetizado por una fracción particulada de -- membranas que contiene la enzima (ACIDO HIALURONICO SINTETASA), se requiere - de UDP-Nacetilglucosamina y UDP-Acido glucurónico como sustratos, de Mg^{+2}como activador y posiblemente de una molecula aceptora. In vivo, la síntesis ocurre en la membrana plasmática.

6.-**HETEROPOLISACARIDO CAPSULAR DE** Klebsiella aerogenes: La biosíntesis del polímero requiere de Nucleósidos-difosfato-azucares como precursores y - de Undecaprenol-fosfato como lípido acarreador. No se ha dilucidado si - son varias las enzimas que catalizan el proceso asociadas entre sí formando un complejo multienzimático o si se trata de una polisacarido sintetasa .

Los precursores son 1A **UDP-Galactosa, GDP-Manosa y UDP-Acido glucurónico.** La primera etapa es la transferencia de la galactosa-P al lipido-fosfato, liberandose UMP y Lipido-P-P-galactosa. Esta es la única reacción reversible del proceso. El proceso biosintético completo aparece en la siguiente figura:



Biosíntesis del polisacarido capsular de K. aerogenes

FUNCIONES DE LAS CAPSULAS

1.-En medios acuáticos y terrestres, estos polisacáridos protegen a las celulas bacterianas de la predación por protozoarios fagotróficos, hongos mucilaginosos como Dictiostelum discoides o Bdellovibrios., favoreciendo la supervivencia de las células en medios ambientes naturales en condiciones -- competitivas.

2.-Confieren protección contra la desecación.

3.-Permiten la adhesión a superficies sólidas.

4.-La presencia de cápsula confiere virulencia a ciertas especies bacterianas, pero no se ha podido establecer una correlación de aplicación general entre la virulencia y el tamaño de la cápsula. En Cryptococcus neoformans la virulencia es una constante característica de la cepa y no es afectada por el tamaño de la cápsula.

5.- La cápsula proporciona una carga superficial negativa a la célula debido al alto contenido de ácidos urónicos en los polisacáridos. Además es una cubierta hidrofílica.

6.- Las cápsulas constituyen una barrera contra la entrada de macromoléculas al organismo, como son drogas, DNA y bacteriófagos.

7.- Estas envolturas tienen capacidad de intercambio iónico debido a que son estructuras cargadas, pudiendo colaborar en la concentración y equilibrio de cationes esenciales.

8.- Son antigénicas, lo que permite la producción de vacunas para como medidas profilacticas para evitar infecciones.

9.- Para un gran número de organismos las cápsulas constituyen una barrera considerable a los mecanismos de defensa del animal hospedero, ya que protegen efectivamente a las bacterias contra el ataque de neutróofilos y monocitos, incrementrando la virulencia del microorganismo. Sin embargo se ha observado que los estreptococos pueden ser ingeridos por macrófagos alveolares.

10.-Las cápsulas dan protección a enzimas extracelulares como ocurre con la B-Lactamasa II de Bacillus cereus 569H, la cual aumenta en un 50% su actividad cuando está presente el polisacárido capsular.

11.- Para algunos microorganismos las cápsulas cumplen funciones de reserva o almacenamiento. Por ejemplo Streptococcus pyogenes posee una hialuronidasa capaz de degradar el ácido hialurónico que constituye sus cápsulas, pero no se sabe si el microorganismo obtiene beneficios de la degradación.
Azotobacter vinelandi, Beijerinckia indica y Rhizobium sp utilizan sus propios exopolisacáridos para apoyar su crecimiento, por lo que sirven como fuentes de energía.

Existen bacterias que pueden degradar los exopolisacaridos de otros organismos, por ejemplo, Bacillus palustdris crece degradando los exopolisacáridos de Streptococcus pneumoniae tipo III o tipo VIII.

B I B L I O G R A F I A

1.- Bayer, M.E., E. Carlemalm y E. Kellenberger. 1985. Capsule of Escherichia coli K29. Ultrastructural Preservation and Immunoelectron Microscopy. J. Bacteriol. 162 (3): 985-991.

2.- Brubaker, R.R. 1985. Mechanism of Bacterial Virulence. Ann. Rev. Microbiol. 35: 21-50.

3.- Dykstra, M.A. 1977. Capsule Size of Cryptococcus neoformans: Control and Relationship to Virulence. Infect. Immun. 16 (1):129-135.

4.- Gaudy, A. y E. Gaudy. 1981. Microbiology for Enviromental Scientist and Engineers. McGraw-Hill. pp 166-167.

5.- Mandelstam, J. y K. McQuillen. 1973. Biochemistry of Bacterial Growth. Blackwell Scientific Publication. Oxford. 2a Edition. pp 103-106.

6.- Rose, A.H. 1977. Microbiología Química. Editorial Alhambra. 2a. Edición española. pp 22-29.

7.- Schegel, H.G. 1975. Microbiología General. Ediciones Omega, S.A pp 41-44

8.- Sutherland, I.W. 1977. Surface carbohydrates of the procaryotic cell. Academic Press. Ltd. London.

9.- Sutherland, I.W. 1985. Biosynthesis and Composition of Gramnegative extracellular and wall polysaccharides. Ann. Rev. Microbiol. 39: 243-270.

10.- Torres-Cabassa, A.S. y S. Gottesman. 1987. Capsule Synthesis in Escherichia coli K12 is regulated by proteolysis. J. Bacteriol. 169 (3): 981-989.

11.- Whitfield, E. et al. 1985. Membrane Proteins correlated with expression of the Polysialic Acid Capsule in Escherichia coli K1. J. Bacteriol. 161 (2): 743-749.