



Inhibidores de la comunicación celular bacteriana: potencial biomédico

Trabajo de fin de grado

Revisión bibliográfica

Autor: Javier Sánchez Mejías

Tutoras: Montserrat Argandoña Bertrán

Alba Arranz San Martín

Departamento de Microbiología y Parasitología

Grado en Farmacia, Facultad de Farmacia

Universidad de Sevilla

Resumen

Las bacterias se comunican intercelularmente a través de un proceso denominado quorum sensing. El quorum sensing comprende diversidad de sistemas que se encuentran mediados por moléculas señalizadoras llamadas autoinductores, y que se encargan de la regulación y expresión de numerosos procesos bacterianos, así como de la expresión de factores de virulencia en procesos infecciosos. Estos sistemas son dependientes de densidad celular, ya que requieren superar una concentración crítica de autoinductores en el medio para su activación.

Debido a su implicación en el desarrollo de numerosos procesos patogénicos, durante los últimos 50 años se ha investigado tanto los diferentes autoinductores existentes como su funcionamiento. Además, la aparición de nuevas cepas multirresistentes durante las últimas décadas ha acelerado la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas.

Más recientemente, han sido descubiertas estrategias naturales para la inhibición de estos procesos quorum sensing, es lo que se conoce como quorum quenching. Estas estrategias interfieren en el proceso de comunicación, ya sea bloqueando competitivamente receptores de membrana, inhibiendo las enzimas de síntesis de los autoinductores o degradando los autoinductores presentes en el medio.

En este trabajo se expone información constatada acerca del quorum sensing y quorum quenching. Para ello, se hace un análisis de los autoinductores más extendidos entre las bacterias, así como de los sistemas en los que participan. También se describen los mecanismos de inhibición de quorum sensing y sus potenciales usos en el ámbito sanitario.

Palabras clave: *quorum sensing, comunicación bacteriana, quorum quenching, autoinductores.*

Índice

1.	Introducción.....	4
1.1	Resistencia antimicrobiana.....	5
1.2	Bacterias ESKAPE.....	8
1.3	Búsqueda de estrategias alternativas.....	8
2.	Objetivos.....	11
3.	Metodología.....	11
4.	Resultados y Discusión.....	12
4.1	Comunicación bacteriana: quorum sensing.....	12
4.1.1	Concepto de quorum sensing.....	12
4.1.2	Tipos de autoinductores.....	13
4.1.2.1	<i>N</i> -acil homoserina lactonas.....	14
4.1.2.2	Péptidos autoinductores.....	17
4.1.2.3	Autoinductor-2.....	20
4.1.2.4	Otros autoinductores.....	23
4.2	Quorum quenching.....	24
4.2.1	Pequeñas moléculas inhibitorias.....	25
4.2.2	Macromoléculas: enzimas hidrolíticas.....	26
4.2.2.1	Lactonasas.....	28
4.2.2.2	Acilasas.....	28
4.2.2.3	Oxidoreductasas.....	29
4.3	Potencial uso del quorum quenching en biomedicina.....	31
5.	Conclusiones.....	33
6.	Bibliografía.....	34

Glosario

- aa= aminoácidos
- ACP = ‘acyl carrier protein’
- ADN = ácido desoxirribonucleico
- AHLs = *N*-acil homoserina lactonas
- AI-2 = autoinductor-2
- AIPs = ‘autoinducing peptides’
- ATP = adenosina trifosfato
- DPD = 4,5-dihidroxi-2,3-pentanodiona
- HK = histidina quinasa
- IMI = ‘Innovative Medicine Initiative’
- MDR = ‘multidrug resistant’
- MRSA = ‘methicilin resistant *Staphylococcus aureus*’
- MSCRAMM = ‘microbial surface components recognizing adhesive matrix’ (Figura 3)
- PBP = ‘penicilin binding protein’
- PLLs = lactonasas de tipo fosfotriesterasa
- PONs = paraoxonasas
- PQS = quinolona señal de *Pseudomonas*
- PTS = sistema fosfoenolpiruvato fosfotransferasa
- QQ = ‘quorum quenching’
- QS = ‘quorum sensing’
- QSIs = inhibidores de quorum sensing
- *R*-THMF = (2*R*,4*S*)-2-metil-2,3,3,4-tetrahidroxitetrahydrofurano
- *S*-THMF = (2*S*,4*S*)-2-metil-2,3,3,4-tetrahidroxitetrahydrofurano
- SAM = *S*-adenosil metionina
- SRH = *S*-ribosil homocisteína
- OMS = Organización Mundial de la Salud

1. Introducción

Las bacterias han estado presentes a lo largo de gran parte la historia de la Tierra. Se estima que la aparición de las primeras bacterias sucedió hace más 3.500 millones de años, siendo estas las precursoras tanto de células eucariotas como de arqueas (estas datan de hace 900 millones de años) (Cavalier-Smith, 2006; Martin et al., 2015).

Las bacterias destacan por su gran adaptabilidad, pudiendo encontrar a estas ‘colonizadoras’ microscópicas en ecosistemas marinos, terrestres, formando parte de nuestra flora intestinal y hasta como agentes etiológicos en brotes epidemiológicos. La epidemia más antigua conocida actualmente data del 500 a.C, fue la conocida como peste de Atenas, producida por *Salmonella entérica* serovar Typhi (Littman, 2009). Sin embargo, la existencia de las bacterias no fue constatada hasta 1676, cuando Antonie van Leeuwenhoek las categorizó como “animálculos”. Su relevancia había pasado desapercibida durante siglos; no obstante, tras su descubrimiento, fueron motivo de estudio por parte de grandes científicos como Louis Pasteur o Robert Koch. Este último, en 1890, fue quien redactó una serie de postulados que demostraban la implicación de las bacterias en enfermedades como el carbunco, la tuberculosis o el cólera (Ross y Woodward, 2016; Singh et al., 2016).

Pese a estos avances, no fue hasta comienzos del siglo XX, durante la primera Guerra Mundial, cuando se produjo un punto de inflexión en el mundo de la medicina. Pese a lo esperado, las muertes causadas durante este conflicto bélico no fueron producidas por heridas de bala, si no que fueron principalmente causadas por las infecciones provocadas a raíz de estas. Fue entonces cuando se destacó la necesidad de mantener una adecuada higiene y cuidado de las heridas abiertas. Los primeros en resaltar esta necesidad fueron el cirujano Alexis Carrel y el químico Henry Dakin (Santos-Lopez et al., 2021). En 1917, desarrollaron una solución compuesta por hipoclorito de sódico y ácido bórico con actividad antiséptica. Además, protocolizaron la sanación de heridas abiertas y posterior vendaje para promover una cicatrización más eficaz. El resultado fue el descenso de la mortalidad desde un 90% hasta un 10% en los casos tratados (Sabbatani y Fiorino, 2017). Durante el transcurso de la ‘Gran Guerra’, el médico británico Alexander Fleming estuvo inmerso en la búsqueda de alternativas a los antisépticos usados hasta la fecha. En 1921, ya había descubierto una enzima con efectos bactericidas, la lisozima, pero no fue hasta

1928 cuando descubrió la primera penicilina en un cultivo de estafilococos, abriendo paso a la nueva ‘edad de oro’ de los antimicrobianos (Lobanovska y Pilla, 2017; Tan y Tatsumura, 2015).

La época dorada de los antimicrobianos puede considerarse entre 1940 y 1970. En 1945 se comenzó a producir industrialmente la penicilina. Además, ese mismo año se obtuvo su estructura mediante análisis cristalográfico por rayos X (el conocido anillo β -lactámico propio de las penicilinas), lo que propició el desarrollo de las posteriores penicilinas sintéticas. Fue a partir de aquí que comenzaron a descubrirse nuevos grupos de antimicrobianos, como es el caso de la cefalosporina, la furosemida o la gramicidina, entre otros (Nicolaou y Rigol, 2018); esta sucesión de hallazgos dio lugar a la actual clasificación de antibióticos (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de antibióticos actuales (Uddin et al., 2021).

Clases de antibióticos	
Inhibidores de la síntesis de la pared bacteriana	β -lactámicos
Inhibidores de la síntesis de proteínas	glucopéptidos, aminoglicósidos y tetraciclinas
Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos	rifamicina y fluoroquinolonas
Antimetabolitos	sulfonamidas y trimetoprima
Disruptores de membrana	polimixinas

1.1 Resistencia antimicrobiana

No obstante, sólo tuvieron que pasar 14 años desde el descubrimiento de la penicilina para reportar la primera bacteria resistente (Lobanovska y Pilla, 2017). Casi 100 años más tarde, alrededor de un 16% de las muestras tomadas de *Staphylococcus aureus* en sangre en Europa presentaban resistencia a las penicilinas (según el informe epidemiológico anual de 2021 de la Red Europea de Vigilancia de la Resistencia a los Microbianos, ‘EARS-Net’)

En la actualidad, como hemos podido observar, gran parte de los antibióticos en uso tienen efectos directos sobre la propia integridad de la bacteria. Este se cree que es uno de los motivos principales por los que el desarrollo de resistencias ha sido mucho más pronunciado (Figura 1), ya que compromete la supervivencia celular al interferir en

procesos vitales. Esta presión selectiva ha derivado en diversos mecanismos de resistencia, tanto intrínsecos como adquiridos. La resistencia intrínseca es debida a mutaciones del material genético propio de la bacteria; la adquirida es debida a transformación mediante ADN libre, transducción por bacteriófagos, o conjugación por vía de plásmidos o transposones (Aleksun y Levy, 2007). En el caso de las cepas de *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), estas expresan una proteína fijadora de penicilina alterada (PBP2a, y que está implicadas en la síntesis de la membrana plasmática) cuya afinidad a los β -lactámicos es menor (Baran et al., 2023). Además, procesos como las bombas de eflujo (Soto, 2013) o la formación de biopelículas (ambos dificultan la llegada de estos fármacos a concentraciones bactericidas en el seno de las colonias, por lo que las bacterias pierden sensibilidad) también favorecen la aparición de estos mecanismos de resistencia.

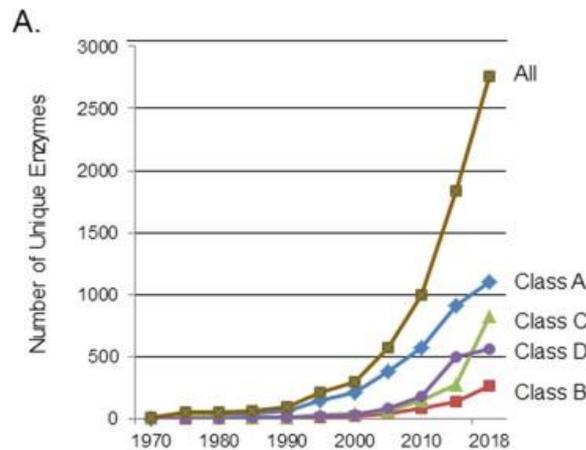


Figura 1. Evolución del número de β -lactamasas únicas encontradas hasta 2018 (Bush, 2018).

Otro de los motivos por los que existe esta creciente tendencia a la resistencia a antimicrobianos es el uso indiscriminado de antibióticos empleados tanto en ganadería (el 80% de los vendidos en EE. UU. van destinados a la producción de alimento, y es usado como profiláctico) como en humanos: entre un 40% y un 70% de pacientes con enfermedades respiratorias virales termina siendo tratados con antibióticos (a causa de la falta de métodos de diagnóstico rápido). A esto hay que sumarle el abandono progresivo por parte de las empresas farmacéuticas en la búsqueda de nuevos fármacos, debido a la pérdida de valor neto actual de los antibióticos respecto a otros campos. De este modo, las investigaciones quedaron casi reducidas a alianzas público-privadas (Bartlett et al., 2013).

En su estudio, Sionov y Steinberg (2022) destacaron que la virulencia de las principales bacterias patógenas se basan en 3 aspectos: en la resistencia antimicrobiana, el quorum sensing (que es un sistema de comunicación celular del que trataremos en esta revisión) y la formación de biopelículas. Es a lo que ellos llamaron ‘The Holy Triangle’ (‘El Triángulo Sagrado’). La formación de biopelículas es otro de los factores principales que conllevan a una menor susceptibilidad a los antibióticos. Una biopelícula (encontrado frecuentemente en inglés como ‘biofilm’) es considerada como una comunidad microbiológica en la que existen células fijas a un sustrato (Figura 2). Éstas se encuentran dentro de una matriz extracelular secretada que está compuesta principalmente por componentes poliméricos, además de polisacáridos y ADN (Beitelshees et al., 2018). Esta matriz permite crear un ambiente óptimo para el desarrollo de una colonia, ya que evita la exposición frente a factores externos como pueden ser cambios drásticos de la temperatura o pH, la respuesta inmunitaria del propio individuo o los efectos de un medicamento en caso de un episodio infeccioso, entre otros (Soto, 2013). Actualmente se conoce que más del 80% de las bacterias que producen infección son capaces de producir biopelículas (Zhang et al., 2019), lo que permite aumentar la tolerabilidad de las células a los medicamentos hasta en 1000 veces (Olsen, 2015). Por ello, interferir en el proceso de síntesis de estas matrices puede tener un futuro prometedor.

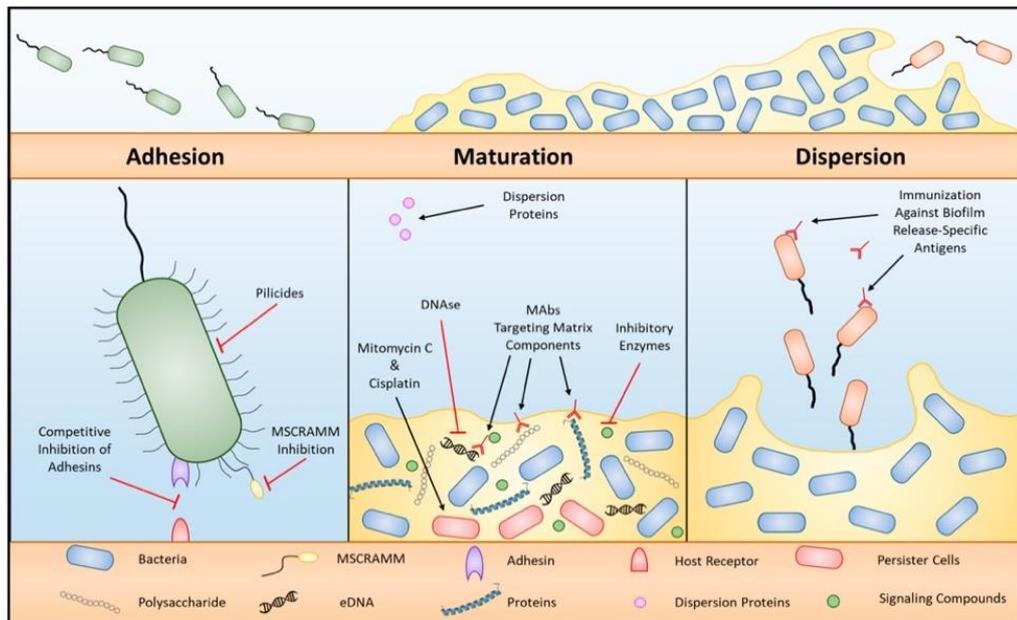


Figura 2. Esquema de las fases de formación de una biopelícula y sus dianas terapéuticas (Beitelshees et al., 2018).

1.2 Bacterias ESKAPE

Acorde a las investigaciones realizadas durante la última década sobre la cada vez más frecuente resistencia antimicrobiana, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó en 2017 un listado de patógenos de vigilancia prioritaria. Estos patógenos oportunistas son conocidos como grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y varias especies de *Enterobacter*) y se debe extremar su vigilancia debido a su alta capacidad de resistencia frente a los antibióticos; son los denominados ‘multidrug-resistant’ (MDR). Actualmente, se ha confirmado que este grupo de bacterias han desarrollado resistencia frente a β -lactámicos y conjugados con inhibidores de β -lactamasa, tetraciclinas, oxazolidinas, lipopéptidos, macrólidos e incluso antibióticos de última línea, como carbapenemos, glucopéptidos y polimixinas (De Oliveira et al., 2020).

Según un estudio realizado en Reino Unido (O’Neill, 2016), se estima que para 2050, la resistencia antimicrobiana esté implicada en 10 millones de muertes y en la pérdida de 100 billones de dólares. Estos datos nos recalcan de la urgente necesidad de investigar nuevas estrategias antimicrobianas que actúen preferentemente sobre los factores de virulencia, sin condicionar la viabilidad de los patógenos (Zhu y Kaufmann, 2013).

1.3 Búsqueda de estrategias alternativas

A raíz de esta pérdida de potencial en los tratamientos terapéuticos tradicionales, el sector farmacéutico está realizando considerables esfuerzos en la búsqueda de estrategias competitivas que puedan dar buenos resultados frente a bacterias MDR. En 2008, la Unión Europea junto con las empresas farmacéuticas de Europa fundaron la ‘Innovative Medicine Initiative’ (IMI). En 2013, la IMI presentó un programa denominado ‘New Drugs 4 Bad Bugs’, con el fin de acelerar la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos, hacer uso de nuevos modelos de negocio y fomentar el uso responsable de medicamentos (Kostyanov et al., 2016).

A día de hoy existen diversas líneas de investigación. La de mayor prevalencia es la terapia de fármaco combinado. En esta categoría se combinan fármacos clásicos junto con adyuvantes de primera o segunda clase, de forma que su efecto sinérgico aumenta la eficacia de los antimicrobianos. El ejemplo más representativo es el caso de la

combinación de la amoxicilina con el ácido clavulánico, asociación que lleva siendo usada desde hace más de 30 años. En esta combinación, el ácido clavulánico es inhibidor de las β -lactamasas, de forma que se evita la degradación del anillo β -lactámico de la amoxicilina, que mantiene su efecto (De Oliveira et al., 2020).

Entre las diversas estrategias emergentes, las más innovadoras son las terapias alternativas no dependientes de fármaco. Entre ellas, encontramos:

- Terapia de bacteriófagos. También conocida como ‘terapia de fagos virales’. Tienen ventajas respecto a los antibióticos, ya que se concentran exclusivamente donde existe la infección (donde se van a replicar). Debido a este proceso de división, se produce la muerte celular de la bacteria. Los bacteriófagos no suelen producir infecciones secundarias, ni en el hospedador ni en la microbiota humana (Golkar et al., 2014). Para el diseño de bacteriófagos se puede utilizar tecnología CRISPR, lo que permite dirigir la terapia frente a infecciones provocadas por bacterias multirresistentes. Actualmente están siendo utilizados en casos de infecciones por quemadura o en infecciones respiratorias persistentes postoperatorias (De Oliveira et al., 2020).
- Terapia de anticuerpos monoclonales. Pueden tener diversos objetivos (Figura 3), ya que pueden estar dirigidos a:
 - Neutralizar toxinas o autoinductores de quorum sensing.
 - Evitar la unión de receptores celulares para que no exista colonización.
 - Estimular la actividad fagocítica de los macrófagos y la lisis celular.
 - Inhibir la formación de biopelículas.

Poseen una gran especificidad, pero tienen un alto coste de producción y a veces poseen toxicidad asociada. Actualmente existen pocos anticuerpos monoclonales aprobados para el tratamiento de infecciones bacterianas, pero ya hay estudios en fases clínicas (De Oliveira et al., 2020; DiGiandomenico y Sellman, 2015; Vacca et al., 2022).

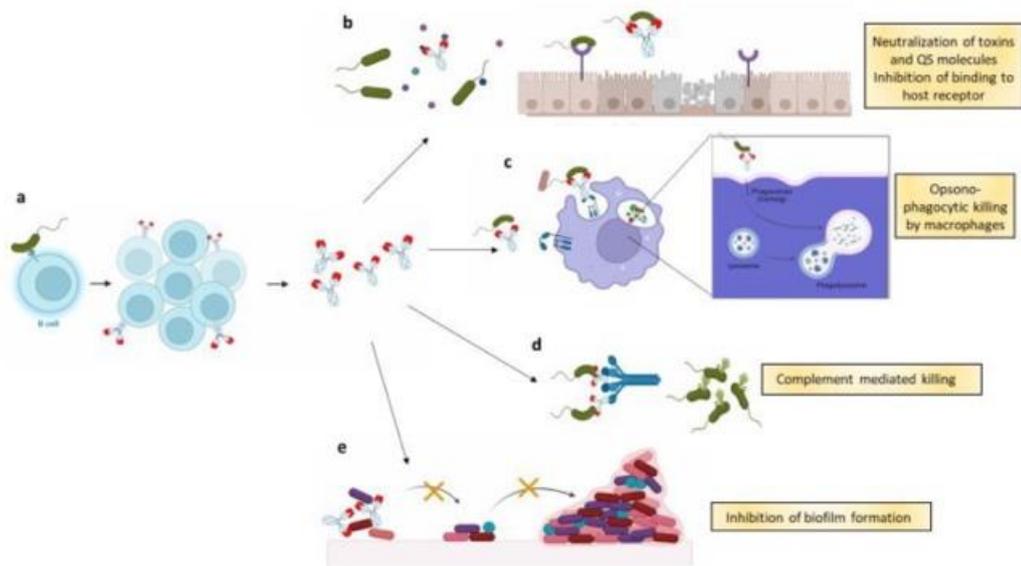


Figura 3. Dianas terapéuticas de los anticuerpos monoclonales (Vacca et al., 2022).

- Inhibidores del sistema quorum sensing. Interfieren en la comunicación célula-célula entre bacterias para prevenir el desarrollo de infecciones (Uddin et al., 2021).

2. Objetivos

Los objetivos propuestos para esta revisión bibliográfica son:

- Comprender el funcionamiento de la comunicación intercelular o quorum sensing llevada a cabo por bacterias, así como los procesos que regula.
- Describir los diferentes autoinductores que participan en el quorum sensing y los sistemas en los que intervienen.
- Comentar las estrategias de inhibición de quorum sensing o quorum quenching, además de presentar moléculas y macromoléculas con actividad quorum quenching.
- Exponer el potencial de los compuestos con actividad quorum quenching como estrategias alternativas frente a infecciones bacterianas multirresistentes.

3. Metodología

Para realizar este trabajo, la metodología utilizada ha consistido en la consulta de bases de datos de referencias bibliográficas, tales como artículos o informes científicos extraídos de PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>), Web Of Science (<https://www.recursoscientificos.fecyt.es/>) o Frontiers (<https://www.frontiersin.org/>). Para llevar a cabo la recopilación de datos, han sido utilizadas palabras clave como *quorum sensing*, *comunicación intercelular*, *autoinductores*, *AHLs*, *AIPs*, *quorum quenching*, y *enzimas quorum quenching* entre otras, siempre intentando centrar la búsqueda en el ámbito microbiológico sanitario. Los artículos científicos han sido filtrados por fecha desde 2000 hasta la actualidad para disponer de información actualizada. Además, se ha procurado siempre consultar las revisiones con mayor reconocimiento académico. La bibliografía ha sido administrada mediante el gestor de referencias Zotero, y en total se compone de cerca de 70 artículos y varios informes sanitarios procedentes de entidades veraces (como son el caso de la Organización Mundial de la Salud o el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades).

4. Resultados y Discusión

4.1 Comunicación bacteriana: quorum sensing

Las bacterias son seres sociales que han desarrollado complejos sistemas de comunicación, lo que les permite organizar y coordinar comportamientos de forma parecida a como lo hace un organismo pluricelular (Bassler y Losick, 2006; Ben-Jacob y Levine, 2006). Esta adaptación evolutiva también les permite responder frente a cambios en el entorno de una manera conjunta, por lo que sus posibilidades de supervivencia en situaciones desfavorables son mayores (Antunes y Ferreira, 2009).

4.1.1 Concepto de quorum sensing

Fue entre 1960 y 1970 cuando se descubrió por primera vez la existencia de este tipo de sistemas de comunicación. El quorum sensing (QS), también conocido como detección de quorum, es un proceso de comunicación intercelular producido entre bacterias para coordinar comportamientos multicelulares (Lyons y Kolter, 2015), es decir, su función es controlar la expresión de genes implicados en diversos procesos biológicos (Tabla 2) con la finalidad de favorecer la viabilidad de la población. Este proceso se encuentra mediado por moléculas de señalización que actúan como intermediadores y a las que se les conoce como autoinductores (Bassler, 2002). Estas moléculas se van acumulando en el medio hasta alcanzar una concentración umbral (Figura 4), que es a la cual se produce la unión a su receptor y desencadena la expresión genética. Este tipo de interacción también se ha encontrado en hongos (Sharma et al., 2020).

Tabla 2. Procesos mediados por QS (Diggle et al., 2007).

Procesos mediados por QS	
Esporulación	Producción de factores de virulencia
Formación de biopelículas	Producción de metabolitos secundarios
Motilidad	Producción de exopolisacáridos
Biofluorescencia	Producción de antibióticos
Pigmentación	Comunicación cruzada entre bacterias

El proceso de comunicación se lleva a cabo en varias etapas, atendiendo a la densidad celular de la población (Dong et al., 2007):

- Densidad de población baja. Se producen niveles basales de autoinductores (I), que se van acumulando de en el medio (II).
- Densidad de población alta. Aquí ya existen altas concentraciones de autoinductores en el medio, por lo que se produce la formación del complejo autoinductor-receptor (III). Esta unión genera una señal que, transmitida a través de una cascada de señales, produce la expresión de diversidad de genes (IV). Posteriormente, se lleva a cabo la degradación enzimática de los autoinductores así como de los factores de transcripción implicados (V). Esta última etapa ha sido confirmada en los sistemas mediados por las *N*-acil homoserina lactonas, mientras que en el caso de los sistemas mediados por péptidos autoinductores sigue siendo una incógnita.

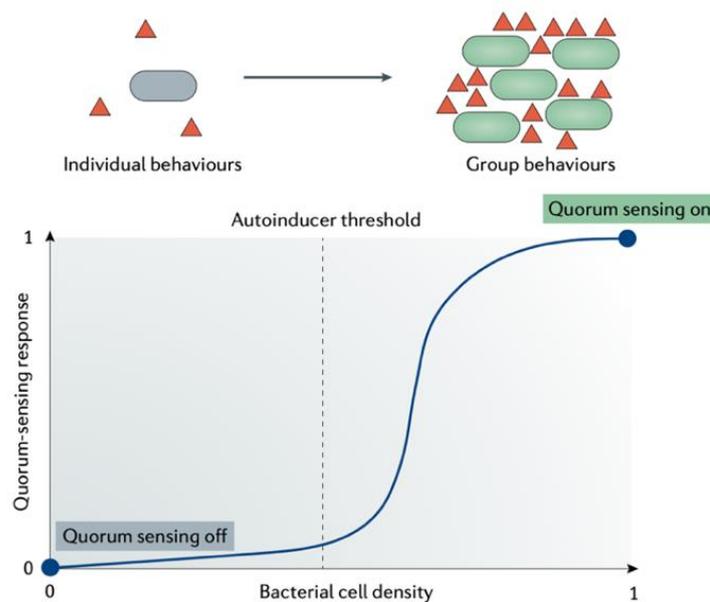


Figura 4. Activación de la respuesta QS dependiente de densidad celular (Mukherjee y Bassler, 2019).

Esta actuación conjunta posibilita y favorece la supervivencia en un medio hostil como puede ser debido a la respuesta inmunológica de un tejido.

4.1.2 Tipos de autoinductores

Como hemos comentado anteriormente, el QS se basa en la producción y detección de moléculas de señalización, las cuales son conocidas como moléculas de señalización de QS o autoinductores. Existen gran variedad de clases de autoinductores, siendo algunas exclusivas de una especie en concreto, pero la mayoría pueden ser clasificadas atendiendo a su naturaleza.

4.1.2.1 *N*-acil homoserina lactonas

Las *N*-acil homoserina lactonas (AHLs), también conocidas como autoinductores-1 (AI-1), son una variedad de moléculas mayoritariamente usadas por bacterias gramnegativas. Es el grupo más investigado hoy en día. Esta familia está compuesta de un anillo de serina lactona unido mediante un grupo amida a un grupo acilo lateral (Figura 5), cuya sustitución en el carbono 3 y longitud es el que determina el subtipo de AHL (Figura 7). Su nomenclatura es *N*-sustitución–acil–homoserina lactona. Algunos abrevian la nomenclatura omitiendo la *N*.

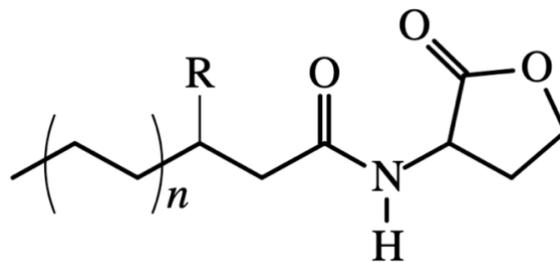


Figura 5. Estructura general de las *N*-acil homoserina lactonas (Dong et al., 2007).

R= -H, -OH, n=0-10

La bacteria sintetiza AHLs a través de la sintetasa I (Figura 6). Para ello, utiliza un grupo acilo de longitud variable unido a una proteína transportadora de acilos (ACP) proveniente de la ruta de síntesis de ácidos grasos y una *S*-adenosil metionina (SAM), dando lugar como productos la correspondiente AHL y una 5-metiltioadenosina.

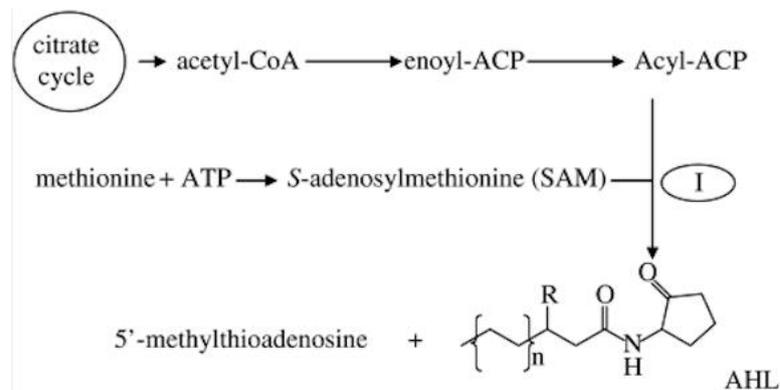


Figura 6. Síntesis de las AHLs mediada por la Proteína I (Dong et al., 2007).

Las AHLs de cadena corta son capaces de difundir según gradiente de concentración a través de las membranas plasmáticas, mientras que las de cadena larga lo hacen a través de transportadores activos. Por ejemplo, un estudio llevado a cabo en *Pseudomonas aeruginosa* demostró que al introducir una mutación en la bomba de eflujo MexAB-OprM, implicada en el transporte activo de la 3-oxo-C12 HSL, provocó la reducción de liberación de AHLs, interfiriendo en el proceso de QS (Dong et al., 2007).

A

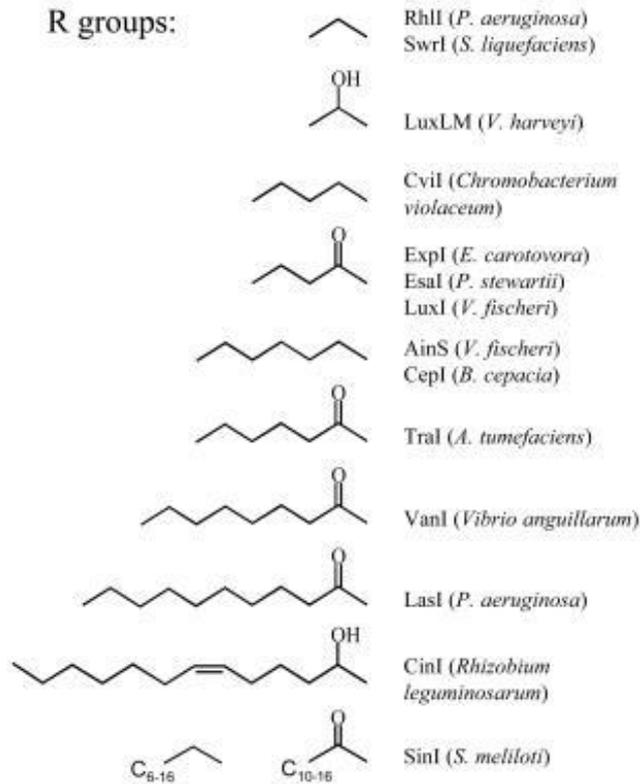
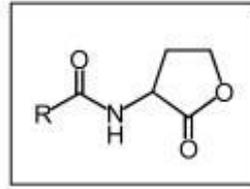


Figura 7. Diferentes tipos de autoinductores AHL (Taga y Bassler, 2003).

Las AHLs actúan según varios mecanismos de regulación de QS. *Vibrio fischeri* fue la primera especie en ser descrita por su sistema de QS, cuando a comienzos de los 70 se llevó a cabo estudios de bioluminiscencia en los fotóforos de un calamar, *Euprymna scolopes*. No obstante, no fue hasta 1994 cuando se demostró el funcionamiento del sistema LuxI/LuxR. En este sistema (Figura 8), el gen *luxI* es el encargado de codificar la proteína LuxI, la cual es responsable de la síntesis de la 3-oxo-C6-homoserina lactona (OC6-HSL), que se comienza a acumular en el medio. Tras alcanzar la concentración umbral anteriormente mencionada, se produce la formación de un trímero junto con el regulador transcripcional LuxR y el operón de ADN. El regulador LuxR se conjuga por su extremo N terminal con la AHL y con la región promotora *luxBox* del operón de ADN *luxCDABEG* por el extremo C terminal (Zhu et al., 2023).

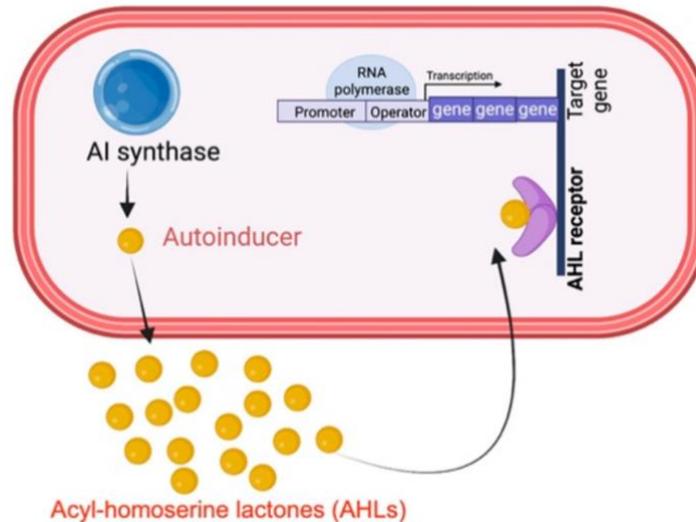


Figura 8. Esquema de sistema QS mediado por AHLs en bacterias gramnegativas (Santajit et al., 2022).

Otro de los ejemplos más estudiados es el caso de *P. aeruginosa*, bacteria de carácter oportunista en inmunocomprometidos en centros hospitalarios que es causante desde infecciones cutáneas hasta respiratorias. Destaca por su papel en neumonías, en fibrosis quística y en infecciones sanguíneas. En el caso de *P. aeruginosa*, existen los sistemas *las* y *rhl* (Figura 9). La enzima LasI sintetiza 3-oxo-C12-HSL, mientras que la enzima RhII sintetiza C4-HSL (también conocido como BHL). De la misma forma que ocurría en *V. fischeri*, una vez alcanzada la concentración umbral en el medio, las AHLs se unen respectivamente a LasR y a RhIR, formando el trímero AHL-promotor-ADN y activando la expresión de los genes: el sistema *las* se encarga principalmente de regular la expresión de la elastasa LasB, además de la síntesis de componentes de biopelícula junto con otros factores de virulencia (Santajit et al., 2022); por su parte, el sistema *rhl* codifica la biosíntesis de ramnolípidos, un factor de virulencia (reducen el transporte mucociliar en el epitelio respiratorio humano (Soberón-Chávez et al., 2021).

Además de los sistemas *las* y *rhl*, *P. aeruginosa* posee un tercer sistema mediado por quinolonas conocido como sistema *pqs*, implicado en la expresión de otros factores de virulencias. Es motivo de mención ya que el sistema *las* controla positivamente tanto al sistema *rhl* como al sistema *pqs*, de forma que los tres sistemas quedan interrelacionados entre sí. Asimismo, el sistema *pqs* puede controlar la expresión de RhII y RhIR (Papaioannou et al., 2013).

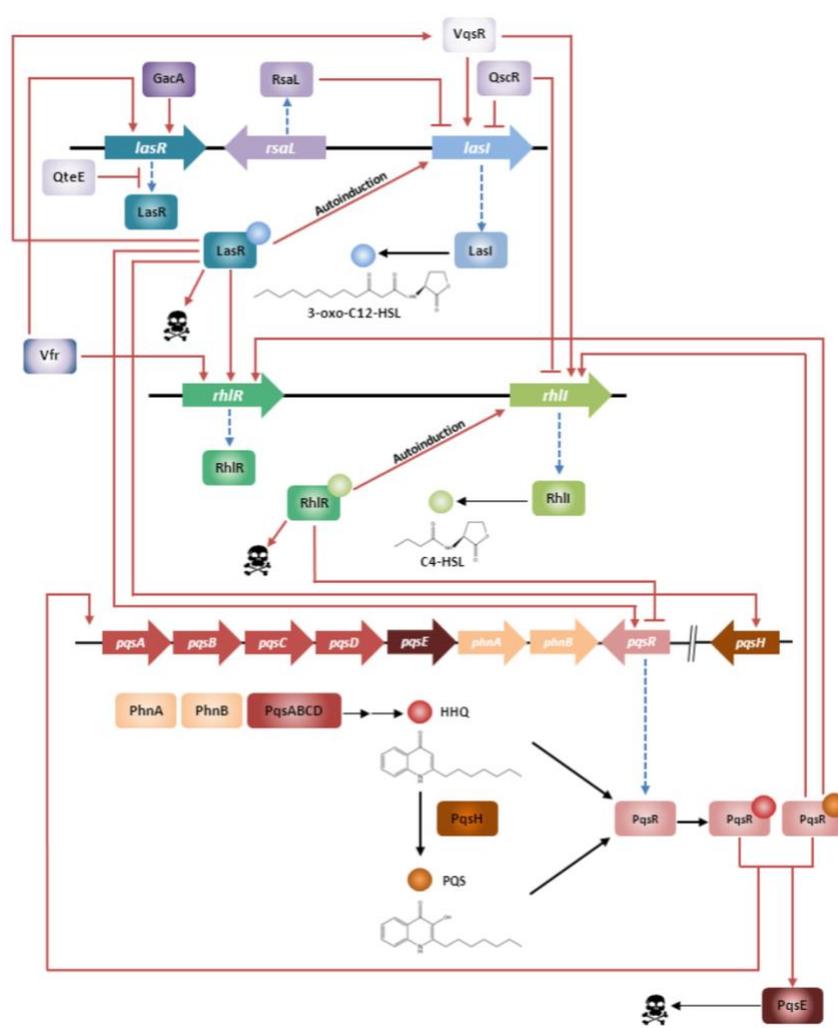


Figura 9. Esquema de los sistemas *las*, *rhl* y *pqs* en *P. aeruginosa*. Las calaveras representan factores de virulencia (Papaioannou et al., 2013).

4.1.2.2 Péptidos autoinductores (AIP)

Las bacterias grampositivas, por su parte, se comunican principalmente por oligopéptidos modificados conocidos como péptidos autoinductores (AIP, del inglés ‘autoinducing peptides’). Estas cadenas peptídicas son de tamaño variable y pueden ser tanto lineales como cíclicas (Sturme et al., 2002). Son sintetizadas en los ribosomas en forma de propéptidos, por lo que requieren de una modificación postraduccional. Esta modificación se lleva a cabo en la membrana bacteriana, y se produce tanto por el extremo N terminal como por el C terminal del propéptido. En el caso de los AIPs cíclicos poseen una ciclación en el extremo carboxilo terminal (Thoendel y Horswill, 2009).

El mecanismo de acción de este grupo de autoinductores se basa en sistemas de regulación transduccional compuestos por uno o dos componentes (Abbamondi y Tommonaro, 2022):

- Sistema de componente único. Los AIPs entran al citoplasma a través de una permeasa. De esta forma interactúan directamente con el regulador de respuesta intracelular.
- Sistema de dos componentes. Consta de un receptor de membrana histidina quinasa (HK) de membrana y de un regulador de respuesta (RR) intracelular. El receptor HK posee un dominio extracelular y uno intracelular. Al extremo N-terminal del dominio extracelular se le une un AIP, por lo que se genera una señal que se transmite a través de las hélices transmembrana hasta el dominio intracelular. El extremo C-terminal del dominio intracelular se encarga de hidrolizar un ATP para fosforilar un residuo de histidina, de forma que la HK queda activada. Es entonces cuando, a través de este fosfato, fosforila un residuo de aspartato del RR, activándolo y desencadenando la posterior regulación de expresión genética (Abbamondi y Tommonaro, 2022; Khorchid y Ikura, 2006; Tierney y Rather, 2019).

El ejemplo más estudiado entre las bacterias grampositivas de este tipo de autoinductor es en *Staphylococcus aureus*. Esta es una bacteria que se encuentra presente en el 30% de la población mundial, y que es conocida como una de las principales causantes de infecciones nosocomiales. Está implicada en infecciones pulmonares, infecciones cutáneas, osteomielitis, abscesos y bacteriemia (Ahmad-Mansour et al., 2021).

Existen 4 grupos de AIPs (Figura 10) sintetizados por el género *Staphylococcus* (grupo I-IV). Poseen un tamaño de 7 a 9 aa. Es característico de estos grupos la existencia de una condensación de 5 aminoácidos en el extremo C terminal, formando una tiolactona debido a la presencia de una cisteína (a excepción de *S. intermedius* y *Enterococcus spp*, que producen una lactona al poseer una serina en lugar de una cisteína) (Lyon y Novick, 2004).

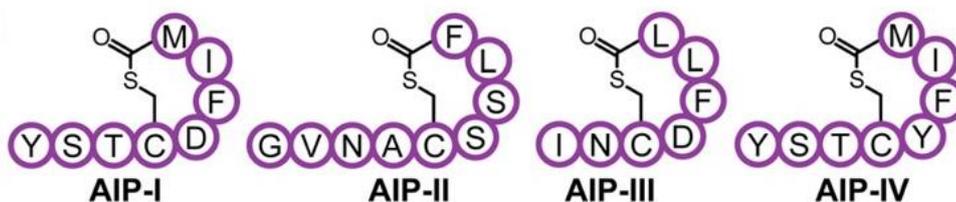


Figura 10. Clasificación de los AIPs existentes entre las cepas de estafilococos

(Vasquez y Blackwell, 2019).

En este caso, trataremos sobre el principal sistema de esta bacteria, el sistema *agr* ('Accessory gene regulator'), que es un sistema de dos componentes. Para su maduración

(Figura 11), el propéptido sintetizado en el ribosoma (AgrD) se une a la capa interna de la membrana citoplasmática por su extremo N terminal (Paso 1). La endopeptidasa AgrB realiza una escisión por el C terminal, y forma un enlace tioéster (la peptidasa posee una Cys-84) con el nuevo extremo C terminal (Paso 2). El propéptido AgrD posee un residuo de cisteína, que es el que reemplaza el enlace tioéster con la AgrB, formando un anillo de tiolactona (Paso 3) y liberándose de la proteasa. Una vez tenemos el residuo ciclado, resta eliminar el extremo N terminal. Para ello, el residuo se transporta a la cara externa de la membrana (Paso 4), dónde la peptidasa de señal SpsB realiza la escisión y libera el AIP maduro (Paso 5) (Thoendel y Horswill, 2009).

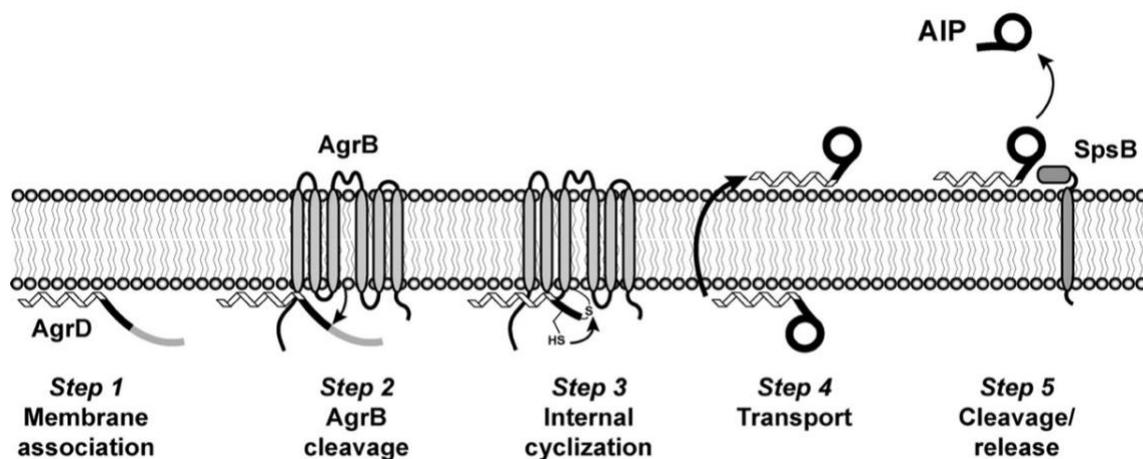


Figura 11. Esquema de la síntesis de AIPs en el sistema *agr* producido en la membrana citoplasmática (Thoendel y Horswill, 2009).

Una vez obtenido el péptido maduro (Figura 12), tras alcanzar la concentración crítica de autoinductor, el AIP se une a un receptor de membrana llamado AgrC, que posee un dominio HK. Seguidamente, AgrC fosforila a AgrA, un regulador de respuesta implicado, que queda activado y que induce la transcripción de los promotores P2 y P3 del sistema *agr*. P2 se encarga de la transcripción del operón *agrBDCA*, es decir, tiene un efecto autoinductor, ya que estimula la síntesis de los diversos componentes del sistema *agr*. Mientras que P3, por su parte, induce la expresión de RNAlII, que es el efector primario del sistema y estimula el aumento de la producción y secreción de factores de virulencia y exoproteínas, entre otros.

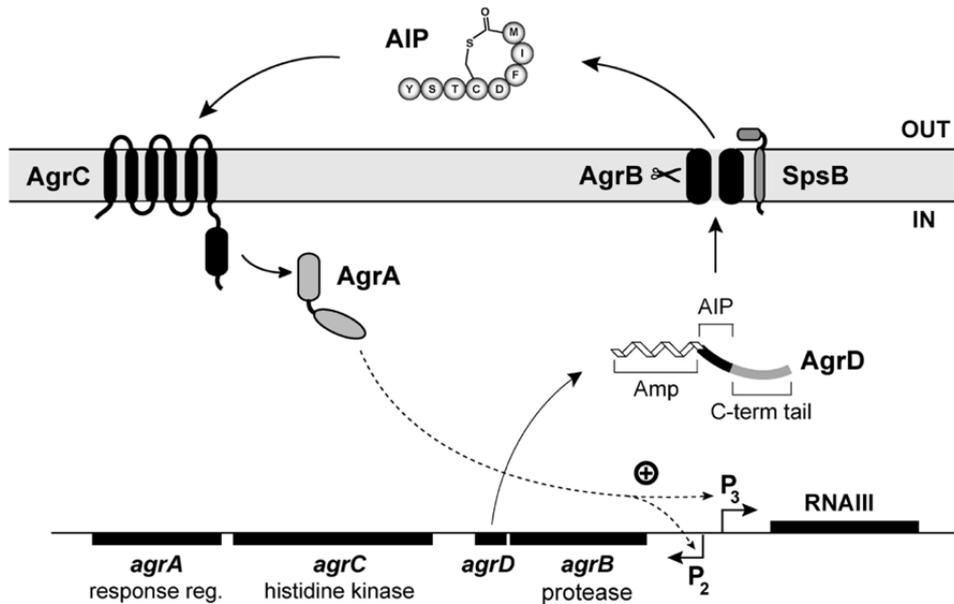


Figura 12. Esquema del funcionamiento del sistema *agr* en *S. aureus* (Thoendel y Horswill, 2009).

S. aureus posee 17 sistemas, interviniendo 4 de ellos (*agr*, *arl*, *sae* y *srr*) en la regulación de genes que codifican factores de virulencia (Tabla 3)(Lyon y Novick, 2004).

4.1.2.3 Autoinductor-2

El autoinductor-2 (AI-2) es generalmente conocido como la señal de comunicación interespecie por excelencia, ya que se conserva en un gran número de bacterias tanto gramnegativas como grampositivas (Zhang et al., 2019). Es producido como resultado de la ciclación de la molécula 4,5-dihidroxi-2,3-pentanodiona (DPD), un producto del ciclo de SAM (Figura 13).

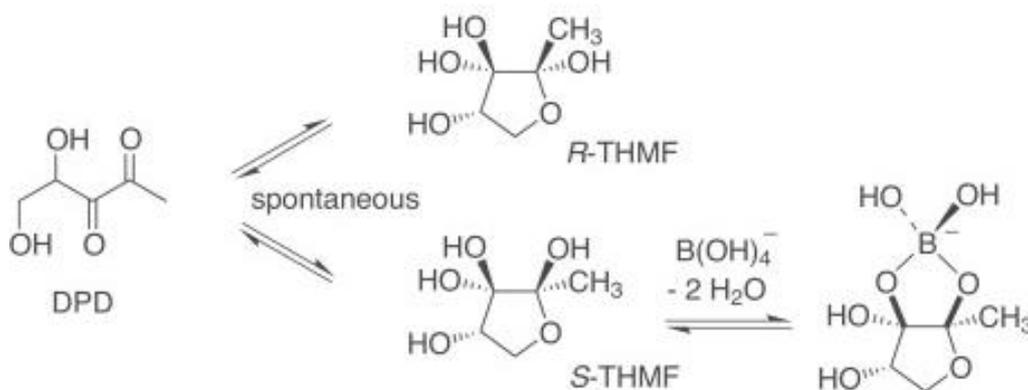


Figura 13. Formación de AI-2 mediante ciclación espontánea de DPD (Fetzner, 2015).

EL ciclo de SAM (Figura 14) es un ciclo celular utilizado para reciclar la S-adenosilmetionina (SAM), que es el principal donador de metilo de la célula (Kaur et al.,

2018; Pereira et al., 2013) y que está implicado en reacciones de metilación esenciales para el metabolismo celular.

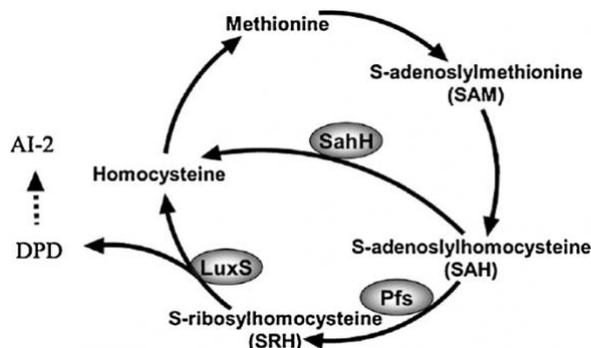


Figura 14. Esquema del ciclo de SAM (Xu et al., 2017).

A partir de SAM, el producto obtenido tras una transmetilación es la *S*-adenosil homocisteína (SAH), un intermediario tóxico que si se acumula puede inhibir el ciclo. Según como se metabolice este compuesto, encontramos reacciones en un paso o en dos. Los organismos que realizan la conversión en un paso poseen la enzima SahH, que convierte directamente esta molécula en homocisteína. Los que la realizan en dos, son aquellos capaces de producir el AI-2. Primero, a través de la enzima Pfs, producen *S*-ribosilhomocisteína (SRH) y adenina, para posteriormente convertir la SRH en homocisteína y DPD mediante la enzima LuxS. Una vez obtenido DPD, éste cicla espontáneamente tanto a (2*S*,4*S*)-2-metil-2,3,3,4-tetrahidroxitetrahidrofurano, *S*-THMF. (*V. harveyi*) como a (2*R*,4*S*)-2-metil-2,3,3,4-tetrahidroxitetrahidrofurano, *R*-THMF (*S. typhimurium*). En presencia de boro, se puede producir la forma borada de *S*-THMF (Kaur et al., 2018; Pereira et al., 2013).

Actualmente se conocen dos tipos de receptores de AI-2: LuxP y LsrB.

- **LuxP**: Es una proteína periplasmática (Figura 15) asociada a la familia de los transportadores ABC ('ATP-binding cassette'). LuxP modula la actividad de un sensor de membrana, LuxQ, y ambas regulan una cascada de fosforilación a raíz de la unión de determinadas concentraciones de AI-2. Esto produce un flujo de fosfato en dirección hacia LuxPQ, lo que desencadena la desfosforilación de un regulador de respuesta llamado LuxO. Al estar desfosforilado LuxO, no induce la transcripción de un grupo de ARN de regulación denominado Qrr1-5. Esto conlleva a que no se exprese el regulador AphA, encargado de inhibir el ARNm *luxR*. Al expresarse el ARNm *luxR*, LuxR se sintetiza y se desencadenan los procesos asociados a QS (Pereira et al., 2013).

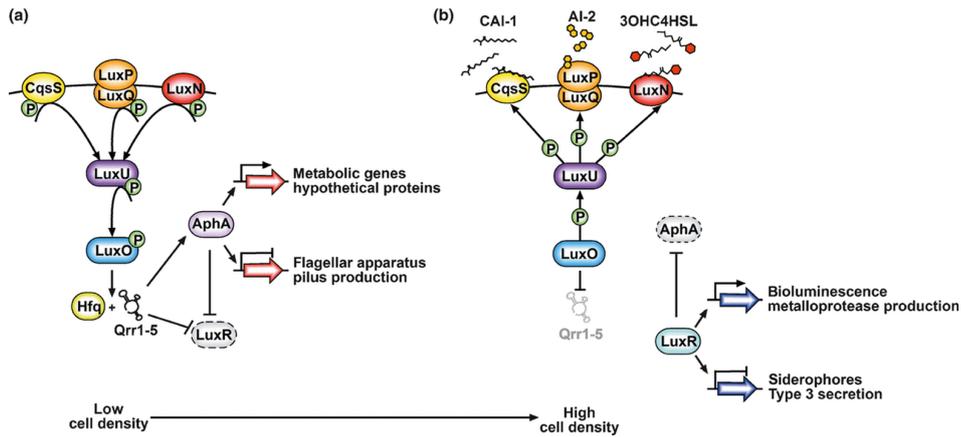


Figura 15. Sistemas QS en *V. harveyi* (Pereira et al., 2013).

- LsrB**: Es otra proteína periplasmática, pero está ligada a un complejo sistema denominado Lsr ('LuxS regulated') (Figura 16). Para explicar su funcionamiento, tomaremos de ejemplo el caso de *Escherichia coli*. Este sistema requiere de una activación previa que se produce gracias al sistema fosfoenolpiruvato fosfotransferasa (PTS). Las bacterias producen niveles basales de AI-2, que es expulsado al medio (a). El sistema PTS transporta al citoplasma moléculas de AI-2, donde los niveles basales de LsrK existentes fosforilan estas moléculas de AI-2. Las AI-2 fosforiladas se unen a una proteína reguladora llamada LsrR, que estimula la expresión tanto del operón *lsr* como de LsrR y LsrK (b). Es entonces cuando a partir del operón *lsr* se sintetizan el receptor LsrB, además de las proteínas complementarias LsrA, LsrC y LsrD. Este grupo de proteínas introduce más AI-2 dentro de la célula, que al fosforilarse retroalimenta positivamente el sistema (c) (Pereira et al., 2013).

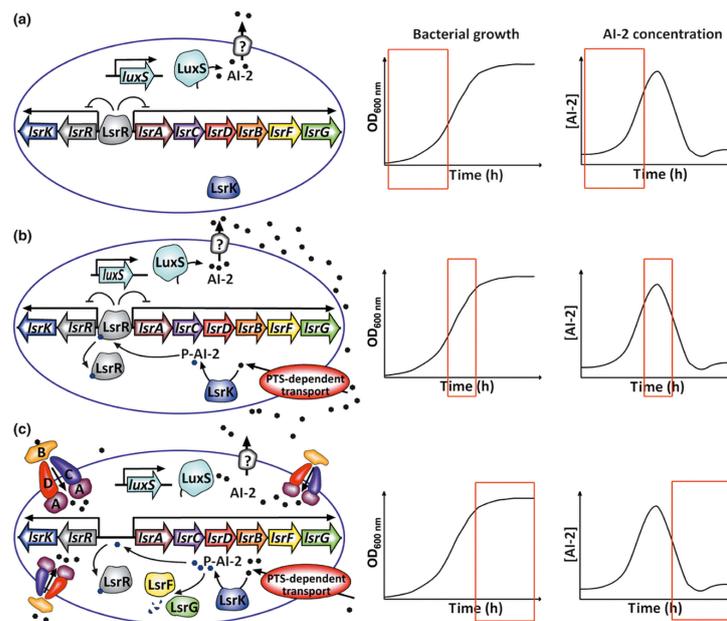


Figura 16. Modelo de producción, detección y señalización de AI-2 mediado por el sistema *lsr* de *E. coli* (Pereira et al., 2013).

4.1.2.4 Otros autoinductores

Actualmente, la mayoría de los estudios han sido llevados a cabo sobre los autoinductores anteriormente mencionados, principalmente en AHLs y AIPs debido a que cubren gran parte del espectro microbiológico. No obstante, cabe destacar que existen diversidad de tipos de señalizadores específicos (Tabla 4) para una especie. Por ejemplo, un sistema que ha sido ampliamente estudiado es el sistema PQS (Lin et al., 2018), propio de *P. aeruginosa*. Respecto al resto, aún no se conocen detalladamente el funcionamiento de los sistemas en los que intervienen, pero en un futuro pueden ser determinantes en el desarrollo de terapias personalizadas.

Tabla 4. Otros autoinductores (Zhang et al., 2019; Zhu et al., 2023).

Otros autoinductores	
Autoinductor-3	<i>E. coli</i> enterohemorrágica (EHEC), <i>Salmonella</i> , <i>Erwinia carotovora</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
Quinolona señal de <i>Pseudomonas</i> (PQS)	<i>P. aeruginosa</i>
Autoinductor del cólera (CAI-1)	<i>Vibrio</i> spp. and <i>Legionella pneumophila</i>
Factor de señal difusible (DSF)	<i>Xanthomonas</i> spp, <i>Burkholderia cenocepacia</i>
Diquetopiperazinas (DKPs)	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. alcaligenes</i> , <i>E. agglomerans</i> , <i>Citrobacter freundii</i>
Péptido estimulante de competencia (CSP)	<i>Streptococcus mutans</i>

Los sistemas QS no son exclusivos de las bacterias, también pueden encontrarse en algunos hongos. Un ejemplo es el caso de *Candida albicans*, que produce farnesol y otros derivados aminoacídicos (Abbamondi y Tommonaro, 2022) como moléculas señalizadoras. De este modo, se amplían las posibilidades de estudio en infecciones micóticas.

4.2 Quorum quenching

El descubrimiento de los sistemas QS ha sido una revolución en el campo de la investigación (Zhu y Kaufmann, 2013), ya que tienen un papel decisivo en la expresión génica de factores de virulencia (Sharma et al., 2020) en bacterias patógenas. A medida que se ha ido revelando el funcionamiento de dichos sistemas, el interés por parte de la comunidad científica ha ido en aumento, principalmente por la búsqueda de nuevas terapias que poder añadir al arsenal farmacológico en la lucha contra las bacterias multirresistentes (Saeki et al., 2020).

Quorum quenching (QQ) es el nombre que se le otorga a las estrategias basadas en la inhibición de las vías de señalización de los sistemas QS. Este término engloba todos los mecanismos por los que se impide que los autoinductores ejerzan su función en el proceso de comunicación entre bacterias (Saeki et al., 2020). Al interferir en dicho proceso de comunicación, el desarrollo microbiológico se ve afectado, ya que altera la expresión de diversidad de factores de virulencia. Esto permite un mejor tratamiento de enfermedades frente a bacterias multirresistentes. Comparado con las estrategias clásicas, inhibir los sistemas QS ejerce una menor presión selectiva que pueda inducir a la aparición de resistencia (Allen et al., 2014; Fetzner, 2015). Esto se debe a que no interfiere directamente con los procesos metabólicos implicados en el crecimiento celular.

Los sistemas QQ son mecanismos de defensa llevados a cabo por diversidad de organismos, destacando entre ellos las propias bacterias y abarcando desde plantas superiores hasta humanos (Whiteley et al., 2017). De esta forma, las estrategias QQ se consideran estrategias competitivas ya que permiten tanto a especies procariotas como eucariotas modular el comportamiento de la comunidad microbiana (Fetzner, 2015). En el caso de las plantas vasculares, ya se conocía la colaboración simbiótica con ciertas especies bacterianas del suelo, pero los hallazgos realizados durante los últimos 30 años demuestran su capacidad selectiva frente a cepas patógenas. Es por ello por lo que se están llevando a cabo investigaciones en diferentes campos, como agricultura, acuicultura, protección medioambiental, procesado de alimentos o medicina (Zhang et al., 2019).

Los compuestos con actividad QQ pueden actuar en diferentes fases de la comunicación QS. Pueden actuar mediante inhibición directa de la síntesis de autoinductores, inhibición de su transporte, inactivación o degradación de autoinductores, o mediante inhibición competitiva de los receptores de membrana (Shaaban et al., 2019;

Zhang et al., 2019). No obstante, para una mayor facilidad en la clasificación de las moléculas se pueden clasificarse atendiendo a su tamaño (Zhang et al., 2019).

Distinguimos:

- Pequeñas moléculas inhibitorias. Aquí concurren moléculas de bajo peso molecular, principalmente análogos de autoinductores.
- Macromoléculas. Enzimas con capacidad de degradación de autoinductores.

4.2.1 Pequeñas moléculas inhibitorias

Dentro de las pequeñas moléculas inhibitorias (QSI, del inglés ‘small quorum sensing inhibitors’) encontramos todo tipo de moléculas que puedan actuar interfiriendo tanto en la síntesis de moléculas señalizadoras como bloqueando los receptores de membrana. En este grupo se incluyen gran variedad de compuestos producidos de manera natural (Tabla 5), ya que el QQ es un mecanismo de comunicación competitivo usado por bacterias, hongos, plantas vasculares e incluso esponjas (Zhang et al., 2019).

Uno de los grupos más conocidos de este grupo son las furanonas halogenadas. Las furanonas son análogos de AI-2, de forma que posee gran actividad QQ frente a bacterias gramnegativas y grampositivas. Recientemente, se ha llevado a cabo una investigación para evaluar el efecto inhibitorio de diversas furanonas sintéticas (Gómez et al., 2022). Entre los compuestos se han encontrado varios con alta efectividad QQ, pero, a excepción de uno (la bis-3-metoxifenilfuranona), todos producen toxicidad hepática.

Además de las furanonas, a través de síntesis química, se han desarrollado una amplia gama de derivados de benzimidazol, benzotiazol, piranona, quinolona, pirrol, indol, entre otros (Vashista et al., 2023). También se han observado efectos QQ por metales. El desarrollo de nanopartículas compuestas por plata, oro, selenio o telurio han ejercido efectos inhibitorios en procesos mediados por QS (Abbamondi y Tommonaro, 2022).

A pesar del potencial de las QSI, se han encontrado evidencias de resistencia inducida a este tipo de moléculas. La presencia de múltiples sistemas de QS en las bacterias aumenta la probabilidad de que, en caso de la inhibición de uno de ellos, los reguladores transcripcionales inespecíficos de algunas bacterias puedan activar la expresión de genes que contrarresten los efectos producidos por los QSI (Kalia et al., 2019). Para evitar o minimizar la probabilidad de aparición de resistencias para este tipo de compuestos existen una serie de premisas (Kalia et al., 2019), de forma que para el desarrollo de un QSI efectivo, una molécula requiere:

- Bajo peso molecular
- Alta especificidad
- Alta estabilidad
- No producir efectos adversos en el hospedador
- Resistencia a ser degradado por el hospedador
- No alterar la microbiota del hospedador

Tabla 5. Inhibidores naturales de QS (Zhang et al., 2019).

Category	Species	Inhibitor	Target
Bacteria	<i>Bacillus cereus</i> D28	Cyclo- <i>L</i> -proline- <i>L</i> -tyrosine	<i>Chromobacterium violaceum</i> , <i>Vibrio harveyi</i> and <i>Vibrio fischeri</i>
Bacteria	<i>Halobacillus salinus</i> C42	<i>N</i> -(2-Phenylethyl)-isobutyramide and 3-Methyl- <i>N</i> -(2-phenylethyl)-butyramide	<i>Vibrio harveyi</i>
Bacteria	<i>Marinobacter</i> sp. SK-3	Diketopiperazines (DKPs)	CviR and LuxR
Bacteria	<i>Penicillium</i>	Patulin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Cyanobacteria	<i>Lyngbya majuscula</i>	Lyngbyoic acid	LasR
Cyanobacteria	<i>Lyngbya</i> sp.	Pepitides (microcolins A and B)	LuxR
Fungi	<i>Aspergillus</i> spp.	Kojic acid	LuxR
Fungi	<i>Candida albicans</i>	Farnesol (sesquiterpene)	PqsA
Fungi	<i>Penicillium</i> spp.	Patulin and Penillic acid	LasR and RhIR
Marine alga	<i>Delisea pulchra</i>	Brominated furanone and its derivatives	LuxR and LuxS
Marine bacteria	<i>Photobacterium</i>	Cyclodepsipeptides (solonomide a, b)	agr system
Plant	<i>Andrographis paniculata</i> (Burm. F) Nees	Andrographolide	LuxS
Plant	<i>Armoracia rusticana</i>	Iberin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Plant: garlic	<i>Allium sativum</i>	Ajoene	LuxR family
Plant	<i>Baccharis cassinaefolia</i>	Benzopyran	CviR, LuxR and LasR
Plant	<i>Brassica oleracea</i>	Erucin	LasR
Plant	<i>Combretum albiflorum</i>	Flavonoids	LuxR and LuxS
Plant:	<i>Centratherum punctatum</i>	Sesquiterpene lactones	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Plant: Compositae	<i>Curcuma longa</i>	Curcumin	CviR
Plant	Grapefruit	Limonoids (obacunone)	<i>Enterohemorrhagic Escherichia coli</i> (EHEC), <i>Salmonella</i> , <i>Erwinia carotovora</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
Plant:	<i>Hamamelis virginiana</i>	2,5-di- <i>O</i> -galloyl-D hamamelose	RNAlII
Plant:	<i>Houttuynia cordata</i>	Houttuynin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Plant	Many plants	Cinnamaldehyde and its derivatives	LuxR and AI-2
Plant	<i>Quercus</i>	Tanic acid	<i>Proteus mirabilis</i> biofilms
Plant; Bacteria	<i>Streptomyces</i> ; <i>Aspergillus</i> spp.	Coumarins	LuxR and LuxS
Plant	Witch hazel	Witch hazel tannin	LuxR and LuxS
Red algae	<i>Ahnfeltiopsis flabelliformis</i>	α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-glycerol (Floridoside)	TraR
Sponge	<i>Hymeniacidon aldii</i>	Alkaloid (hymenialdisin)	LuxR and LasR
Sponge	<i>Luffareilla variabilis</i>	Manoalide, manoalide monoacetate, and secmanoalide	LuxR and LasR

4.2.2 Macromoléculas: enzimas hidrolíticas

Respecto a la inactivación de autoinductores, la modificación o degradación catalizada por enzimas está muy extendida entre los microorganismos. Al igual que en el caso de los QSIs, existen bacterias de suelo que han desarrollado enzimas capaces de

degradar autoinductores de bacterias patógenas. Sin embargo, las herramientas QQ que actúan sobre un objetivo extracelular como las AHLs, ejercen una menor presión selectiva para inducir a resistencia (Fetzner, 2015).

Un claro ejemplo es el caso de *Arthrobacter* sp. Rue61a. Esta cepa produce un tipo de dioxigenasa (Pustelny et al., 2009) capaz de degradar el heterociclo de las 2-alkil-4(1H)-quinolonas (QAs), que son autoinductores de *P. aeruginosa* y modulan la expresión de factores de virulencia y el desarrollo de biopelículas (Fetzner, 2015). Este tipo de autoinductores es específico de los géneros *Pseudomonas* y *Burkholderia*, por lo que si se consiguiera vehiculizar la dioxigenasa se obtendría una terapia mucho más específica frente a estos géneros. Respecto a los AIPs propios de las grampositivas, algunos estudios (Cook y Federle, 2014; LaSarre y Federle, 2013) sugieren que pueden ser inhibidos por metabolitos secundarios, pero se desconoce la existencia de enzimas que degraden este tipo de moléculas. En el caso de los autoinductores AI-2, se piensa que la quinasa LsrK implicada en la activación del sistema Lsr puede poseer actividad QQ. Al ser añadida extracelularmente, esta proteína fosforila los AI-2 del medio, de forma que los AI-2 fosforilados no pueden ser transportados al citoplasma, perdiendo su actividad QS (Fetzner, 2015).

No obstante, las enzimas hidrolíticas de mayor potencial biotecnológico actúan sobre el sistema QS de las bacterias gramnegativas, las AHLs (Figura 17 y Tabla 6). Éstas se han detectado en una gran variedad de microorganismos y se espera que tengan un futuro prometedor (Fetzner, 2015). Podemos clasificar estas enzimas en dos grupos:

- Clase I. Degradan la molécula de AHL. Encontramos enzimas que hidrolizan el anillo de homoserina lactona (lactonasas) o que hidrolizan el enlace que une la homoserina lactona y el ácido graso (acilasas).
- Clase II. Reducen un carbonilo a un hidroxilo de la AHL (oxidorreductasas).

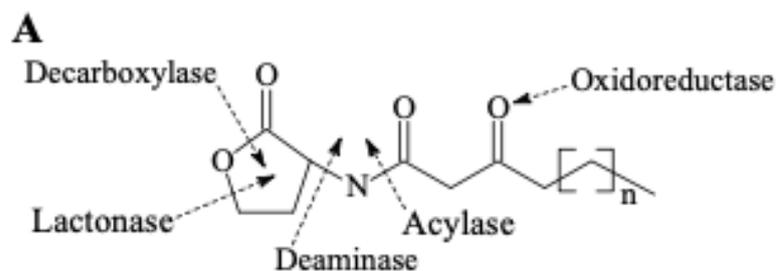


Figura 17. Mecanismos de degradación de AHLs. Se incluyen enzima decarboxilasa y deaminasa (Chen et al., 2013).

4.2.2.1 Lactonasas

Hidrolizan el anillo de homoserina lactona de forma reversible (Figura 18). Esta hidrólisis ocurre de manera idéntica a la lactonólisis pH-dependiente, de modo que tiene la desventaja de que puede recuperar la ciclación mediante acidificación del medio (Yates et al., 2002). No obstante, aplicado junto con una descarboxilasa podría ser una posible solución, ya que impediría la reestructuración de la lactona.

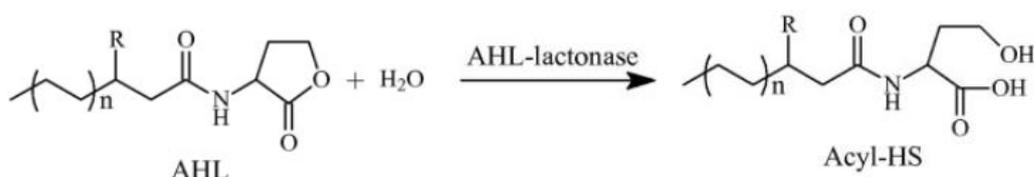


Figura 18. Mecanismo de hidrólisis mediante lactonasa (Chen et al., 2013).

Las lactonasas son específicas tanto de AHLs de cadena corta como de cadena larga, e hidrolizan ambas con una eficacia similar. Las lactonasas se pueden clasificar en cuatro (Zhu et al., 2023) diferentes familias:

- Metalo-beta-lactonasas. Poseen 2 iones de zinc. Son específicas de AHLs de cadena corta y larga.
- Lactonasas de tipo fosfotriesterasa (PLLs). Incluyen enzimas con actividad fosfotriesterasa, lactonasa y amidohidrolasa.
- Lactonasas de tipo alfa/beta hidrolasa.
- Paraoxonasas (PONs). Consideradas como las lactonasas de los mamíferos. Posee un ión Ca²⁺ en el centro catalítico. Están implicadas en la detoxificación de organofosforados.

Tras un estudio de estabilidad realizado sobre la lactonasa AiiA de *Bacillus* sp. (Wang et al., 2004), se determinó que las lactonasas son estables en un rango de pH 6-8, mientras que a un pH inferior pierden su capacidad. A su vez, muestran una excelente estabilidad térmica por debajo de los 37°C, siendo más inestables a temperaturas superiores a los 45°C.

4.2.2.2 Acilasas

Hidrolizan irreversiblemente el enlace amida que une la cadena acilo lateral y el resto homoserin lactona (Figura 19). De esta forma, los productos obtenidos son el correspondiente ácido graso y el anillo de homoserina lactona. La mayoría de acilasas muestran mayor rendimiento frente a AHLs de cadena larga (con o sin sustitución en el C-3 del grupo acilo) (Chen et al., 2013; Fetzner, 2015).

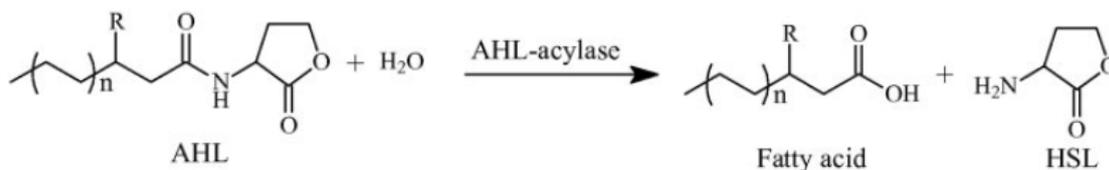


Figura 19. Mecanismo de hidrólisis mediante acilasa (Chen et al., 2013).

La mayoría de acilasas pertenecen a una única superfamilia debido a que presentan el dominio hidrolítico en un extremo N-terminal nucleófilo, denominada ‘Ntn’. Por su parte, presenta una máxima estabilidad a pH=6 y a temperaturas menores de 65°C (Grinberg et al., 2008).

Este tipo de enzima se considera ventajoso para aplicaciones biotecnológicas ya que, comparado con las lactonasas, los productos que genera no pueden regenerar espontáneamente su función señalizadora de QS (Fetzner, 2015).

4.2.2.3 Oxidorreductasas

Las oxidorreductasas poseen actividad oxidativa/reductora (Figura 20), y tienen como diana el grupo acilo lateral. Mediante oxidación/reducción, modifican la estructura química de la AHL, pero no la degradan. No obstante, esta modificación altera la especificidad de la molécula y dificulta el reconocimiento por parte de los receptores. La oxidorreductasa es capaz de reducir el C3 y de oxidar los C ω1, ω2 y ω3. Solo se ha aislado de *Bacillus megaterium* (Chen et al., 2013).

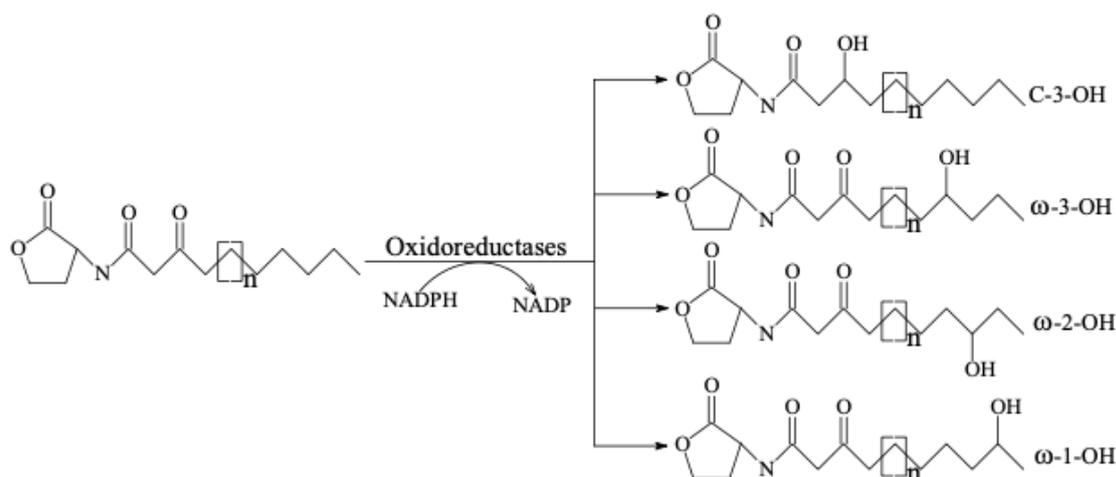


Figura 20. Mecanismos de oxidación/reducción mediante oxidorreductasa (Chen et al., 2013).

Tabla 6. Enzimas QQ y AHLs sobre los que actúan (Chen et al., 2013)

Enzyme	Host	Substrate
AHL lactonase		
	<i>Bacillus</i> sp. 240B1	C6-10-HSL
	<i>Bacillus cereus</i> A24	AHL
AiiA	<i>Bacillus mycoides</i>	AHL
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	AHL
	<i>Bacillus anthracis</i>	C6, C8, C10-HSL
AttM	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	3-oxo-C8-HSL, C6-HSL
AiiB	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> C58	Broad
AiiS	<i>Agrobacterium radiobacter</i> K84	Broad
AhID	<i>Arthrobacter</i> sp. IBN110	Broad
AhIK	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	C6-8-HSL
QlcA	<i>Acidobacteria</i>	C6-8-HSL
AiiM	<i>Microbacterium testaceum</i> StLB037	C6-10-HSL
QsdA	<i>Rhodococcus erythropolis</i> W2	C6-14-HSL with or without C3-substitution
AidH	<i>Ochrobactrum</i> sp. T63	C4-10-HSL
DlhR, QsdR1	<i>Rhizobium</i> sp. NGR234	nd.
AhIS	<i>Solibacillus silvestris</i> StLB046	C6-HSL, C10-HSL
SsoPox	<i>Sulfolobus solfataricus</i> strain P2	C8-12-HSL
	<i>Rhodococcus</i> sp.	Broad
GKL	<i>Geobacillus kaustophilus</i> strain HTA426	C6-12-HSL
PPH	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	C4, C8, C10-HSL,
MCP	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	C7-12-HSL
BpiB01, BpiB04, BpiB05, BpiB07	Soil metagenome	3-oxo-C8-HSL
QlcA	Soil metagenome	C6-10-HSL
AHL acylase		
AiiD	<i>Ralstonia eutropha</i>	C8-12-HSL
PvdQ	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	C7-12-HSL with or without C3-substitution
QuiP	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	C7-14-HSL with or without C3-substitution
AiiC	<i>Anabaena</i> sp. PCC 7120	Chain length more than C10
AhIM	<i>Streptomyces</i> sp. M664	Chain length more than C8
Aac	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Chain length more than C6
	<i>Shewanella</i> sp. MIB015	Broad but prefer long chain
HacA	<i>Pseudomonas syringae</i>	C8,C10, C12-HSL
HacB	<i>Pseudomonas syringae</i>	C6-12-HSL with or without C3-substitution
	<i>Variovorax</i> sp.	Broad
	<i>Variovorax paradoxus</i>	Broad
	<i>Tenacibaculum maritimum</i>	C10-HSL
	<i>Comomonas</i> sp. D1	C4-16-AHL with or without C3-substitution
	<i>Rhodococcus erythropolis</i> W2	C10-HSL
Oxidoreductase		
P450BM-3	<i>Bacillus megaterium</i> CYP102 A1	C12-20-HSL(ω -1, ω -2, ω -3 hydroxylated)

nd, not determined.

4.3 Potencial uso del quorum quenching en biomedicina

Obviando el atractivo potencial que ofrece el uso de estrategias biotecnológicas QQ en otros campos, nos centraremos en sus aplicaciones en el campo de la medicina. En su inmensa mayoría, los estudios realizados a cabo sobre compuestos con actividad anti-QS han sido realizados para demostrar su potencial profiláctico. En comparación, escasos han sido los estudios dirigidos a demostrar su potencial terapéutico (Zhu y Kaufmann, 2013).

En el caso de los QSIs, existen compuestos con los que ya se han llevado a cabo ensayos clínicos (Kalia et al., 2019) y con los que se han obtenido resultados prometedores. De igual forma, los mecanismos compensatorios que inducen a resistencia frente a los QSI deben ser objeto de estudio.

Respecto a las enzimas hidrolíticas, se han llevado a cabo diversos estudios para la funcionalización de enzimas para diferentes aplicaciones. No obstante, la producción a gran escala, la estabilidad o las condiciones de almacenamiento son limitaciones que a día de hoy siguen siendo objeto de estudio (Bzdrenga et al., 2017). La mayoría de las enzimas son estables en un rango de pH 6-8, por lo que a pH gástrico sufren la desnaturalización de su estructura terciaria. Una posible solución podría ser vehicular mediante nanopartículas de metales, que como vimos en el apartado 4.1, poseen actividad QQ, además de proteger las enzimas de condiciones desfavorables o permitir una liberación controlada (Abbamondi y Tommonaro, 2022).

Entre las investigaciones llevadas a cabo con enzimas, se encuentran estudios de inmovilización en membranas, composición de aplicaciones tópicas o aerosolización (Bzdrenga et al., 2017). Actualmente sólo pueden ser consideradas como posibles tratamientos de enfermedades pulmonares (principalmente en casos de fibrosis quística), infecciones bucales o cutáneas. Un ejemplo prometedor fue la investigación llevada a cabo por Utari y colaboradores (Utari et al., 2018), donde se demostraba la eficacia de la acilasa PvdQ frente a una infección pulmonar por *P. aeruginosa*.

Entre las aplicaciones con más proyección, encontramos:

- **Terapia combinada:** de la misma forma que se combinan fármacos clásicos, la terapia combinada ha sido la principal propuesta para este grupo. La conjugación con fármacos puede ofrecer una sinergia significativa que ayude a combatir especies multirresistentes a fármacos. Esto se debe a que la expresión de muchos mecanismos de resistencia a antibióticos está mediada por QS, como es el caso de *S. aureus* resistente a meticilina (Zhu y Kaufmann, 2013), mediado por el sistema

agr. Al interferir en estos procesos, se inhiben mecanismos como la formación de biopelículas y los fármacos consiguen alcanzar las células bacterianas persistentes (Olsen, 2015) en mayores concentraciones, de modo que el tratamiento es más efectivo.

- Profilaxis terapéutica: su aplicación persigue prevenir la instauración de colonias en tejidos humanos. Al interferir en el QS, se inhiben la síntesis de factores de virulencia como la adhesina o la piocianina. La adhesina permite la adhesión a células, tejidos o superficies inertes, mientras que la piocianina, en el caso de *P. aeruginosa*, inhibe los movimientos ciliares del epitelio pulmonar además de producir radicales libres. Al impedir la síntesis de estos tipos de factores, la adhesión se dificulta, y por ello es menos probable una invasión de una superficie (Sionov y Steinberg, 2022). Por ello, puede que estos compuestos tengan uso en:
 - Catéteres hospitalarios (Bzdrenga et al., 2017; Kalia et al., 2019). En caso de pacientes de larga estancia o para pacientes que requieran de un catéter venoso central. Para mantener condiciones de asepsia en productos sanitarios invasivos.
 - Pomadas post operatorias. De igual forma que existen pomadas con antibióticos, para evitar infecciones durante la cicatrización.
 - Colutorios contra caries (Shamim et al., 2023; Wright y Ramachandra, 2022; Yada et al., 2015).
- Tratamientos terapéuticos: En 2014 (Hraiech et al.), la aplicación de lactonasa inhaladas fue capaz de reducir la mortalidad desde un 75% a un 20% en ratones infectados por *P. aeruginosa*.
- Desarrollo de vacunas: mediante inmunización pasiva, el desarrollo de vacunas ha sido capaz de erradicar enfermedades como la peste bovina o la viruela. Es por ello por lo que el desarrollo de vacunas a base de autoinductores o de epítomos con capacidad antigénica (Zhu y Kaufmann, 2013) puede ser una opción beneficiosa para fortalecer el sistema inmunológico de la población. No obstante, existe poca información acerca de esta cuestión, por lo que aún se requiere de un estudio más exhaustivo.

5. Conclusiones

La existencia de gran número de moléculas quorum quenching en la naturaleza nos da a conocer el alcance de este mecanismo de defensa. Gran variedad de QSIs y de enzimas con potencial terapéutico son producidas tanto por plantas como por bacterias de suelo. Su aprovechamiento podría ser una opción destacable, ya que ejercen menor presión selectiva que los antibióticos actuales y pueden ser útiles para combatir bacterias multirresistentes.

Las investigaciones llevadas a cabo hasta la actualidad han demostrado la alta eficacia de inhibir procesos mediados por quorum sensing. Al interferir en estos procesos, se ve reducida la expresión de factores de virulencia, así como los efectos patogénicos producidos en las infecciones bacterianas. Además, la especificidad de diversos autoinductores permitirá en un futuro el desarrollo de terapias personalizadas frente a especies concretas.

A pesar de los buenos resultados obtenidos, hay que ser prudentes. El quorum sensing se fundamenta en sistemas de comunicación mediados por señalizadores extracelulares para la modulación de procesos secundarios llevados a cabo por las bacterias. Esto provoca que las bacterias sean más susceptibles a cambios en el entorno, pero no compromete directamente la supervivencia de la bacteria. Además, otras cuestiones primordiales como la vehiculización de enzimas o su estabilidad en ciertas condiciones fisiológicas necesitan ser aclaradas. Otro aspecto a tener en cuenta es la resistencia a QSIs. El estudio de mecanismos compensatorios en bacterias tratadas con este tipo de moléculas requiere un seguimiento adecuado para esclarecer esta cuestión, ya que puede suponer un problema a largo plazo.

Ante lo expuesto en esta revisión, se puede esperar que este tipo de estrategia pueda comenzar a formar parte de diversas terapias en los próximos años. No obstante, aún se requiere de una mayor profundización que permita abordar las incógnitas que esconden los sistemas quorum sensing.

6. Bibliografía

- Abbamondi GR, Tommonaro G. Research progress and hopeful strategies of application of quorum sensing in food, agriculture and nanomedicine. *Microorganisms*. 2022;10(6):1192.
- Ahmad-Mansour N, Loubet P, Pouget C, Dunyach-Remy C, Sotto A, Lavigne JP, et al. *Staphylococcus aureus* toxins: an update on their pathogenic properties and potential treatments. *Toxins*. 2021;13(10):677.
- Alekshun MN, Levy SB. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*. 2007;128(6):1037-50.
- Allen RC, Popat R, Diggle SP, Brown SP. Targeting virulence: can we make evolution-proof drugs?. *Nat Rev Microbiol*. 2014;12(4):300-8.
- Antunes LCM, Ferreira RBR. Intercellular communication in bacteria. *Crit Rev in Microbiol*. 2009;35(2):69-80.
- Baran A, Kwiatkowska A, Potocki L. Antibiotics and bacterial resistance—a short story of an endless arms race. *IJMS*. 2023;24(6):5777.
- Bartlett JG, Gilbert DN, Spellberg B. Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. *Clin Infect Dis*. 2013;56(10):1445-50.
- Bassler BL. Small talk. Cell-to-cell communication in bacteria. *Cell*. 2002;109(4):421-4.
- Bassler BL, Losick R. Bacterially speaking. *Cell*. 2006;125(2):237-46.
- Beitelshes M, Hill A, Jones C, Pfeifer B. Phenotypic variation during biofilm formation: implications for anti-biofilm therapeutic design. *Materials*. 2018;11(7):1086.
- Ben-Jacob E, Levine H. Self-engineering capabilities of bacteria. *J R Soc Interface*. 2006;3(6):197-214.
- Bush K. Past and present perspectives on β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(10):e01076-18.
- Bzdrenga J, Daudé D, Rémy B, Jacquet P, Plener L, Elias M, et al. Biotechnological applications of quorum quenching enzymes. *Chem Biol Interact*. 2017;267:104-15.
- Cavalier-Smith T. Cell evolution and Earth history: stasis and revolution. *Phil Trans R Soc B*. 2006;361(1470):969-1006.

- Chen F, Gao Y, Chen X, Yu Z, Li X. Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block quorum sensing-dependent infection. *IJMS*. 2013;14(9):17477-500.
- Cook LC, Federle MJ. Peptide pheromone signaling in *Streptococcus* and *Enterococcus*. *FEMS Microbiol Rev*. 2014;38(3):473-92.
- De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(3):e00181-19.
- Diggle SP, Crusz SA, Cámara M. Quorum sensing. *Curr Biol*. 2007;17(21):R907-10.
- DiGiandomenico A, Sellman BR. Antibacterial monoclonal antibodies: the next generation?. *Curr Opin Microbiol*. 2015;27:78-85.
- Dong YH, Wang LH, Zhang LH. Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. *Phil Trans R Soc B*. 2007;362(1483):1201-11.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - annual epidemiological report 2021. Stockholm: ECDC; 2022.
- Fetzner S. Quorum quenching enzymes. *J Biotechnol*. 2015;201:2-14.
- Golkar Z, Bagasra O, Pace DG. Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8(02):129-36.
- Gómez AC, Lyons T, Mamat U, Yero D, Bravo M, Daura X, et al. Synthesis and evaluation of novel furanones as biofilm inhibitors in opportunistic human pathogens. *Eur J Med Chem*. 2022;242:114678.
- Grinberg VYa, Burova TV, Grinberg NV, Shcherbakova TA, Guranda DT, Chilov GG, et al. Thermodynamic and kinetic stability of penicillin acylase from *Escherichia coli*. *Biochim Biophys*. 2008;1784(5):736-46.
- Hraiech S, Hiblot J, Lafleur J, Lepidi H, Papazian L, Rolain JM, Raoult D, Elias M, Silby MW, Bzdrenga J, Bregeon F, Chabriere E. Inhaled lactonase reduces *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing and mortality in rat pneumonia. *PLoS One*. 2014;9(10):e107125
- Kalia VC, Patel SKS, Kang YC, Lee JK. Quorum sensing inhibitors as antipathogens: biotechnological applications. *Biotechnol Adv*. 2019;37(1):68-90.
- Kaur A, Capalash N, Sharma P. Quorum sensing in thermophiles: prevalence of autoinducer-2 system. *BMC Microbiol*. 2018;18(1):62.

- Khorchid A, Ikura M. Bacterial histidine kinase as signal sensor and transducer. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006;38(3):307-12.
- Kostyanev T, Bonten MJM, O'Brien S, Steel H, Ross S, François B, et al. The Innovative Medicines Initiative's New Drugs for Bad Bugs programme: european public-private partnerships for the development of new strategies to tackle antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(2):290-5.
- LaSarre B, Federle MJ. Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2013;77(1):73-111.
- Lin J, Cheng J, Wang Y, Shen X. The *Pseudomonas* quinolone signal (PQS): not just for quorum sensing anymore. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:230.
- Littman RJ. The plague of Athens: epidemiology and paleopathology. *Mt Sinai J Med.* 2009;76(5):456-67.
- Lobanovska M, Pilla G. Penicillin's discovery and antibiotic resistance: lessons for the future?. *Yale J Biol Med.* 2017 Mar 29;90(1):135-145.
- Lyon GJ, Novick RP. Peptide signaling in *Staphylococcus aureus* and other gram-positive bacteria. *Peptides.* 2004;25(9):1389-403.
- Lyons NA, Kolter R. On the evolution of bacterial multicellularity. *Curr Opin Microbiol.* 2015;24:21-8.
- Martin WF, Garg S, Zimorski V. Endosymbiotic theories for eukaryote origin. *Phil Trans R Soc B.* 2015;370(1678):20140330.
- Mukherjee S, Bassler BL. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(6):371-82.
- Nicolaou KC, Rigol S. A brief history of antibiotics and select advances in their synthesis. *J Antibiot.* 2018;71(2):153-84.
- Olsen I. Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;34(5):877-86.
- O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016:1-80
- Papaioannou E, Utari P, Quax W. Choosing an appropriate infection model to study quorum sensing inhibition in *Pseudomonas* infections. *Int J Mol Sci.* 2013;14(9):19309-40
- Pereira CS, Thompson JA, Xavier KB. AI-2-mediated signalling in bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2013;37(2):156-81.

- Pustelny C, Albers A, Büldt-Karentzopoulos K, Parschat K, Chhabra SR, Cámara M, et al. Dioxygenase-mediated quenching of quinolone-dependent quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Chem Biol*. 2009;16(12):1259-67.
- Ross LN, Woodward JF. Koch's postulates: an interventionist perspective. *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci*. 2016 Oct;59:35-46.
- Sabbatani S, Fiorino S. The treatment of wounds during World War I. 2017; 25(2):184-192
- Saeki EK, Kobayashi RKT, Nakazato G. Quorum sensing system: target to control the spread of bacterial infections. *Microb Pathog*. 2020;142:104068.
- Santajit S, Sookrung N, Indrawattana N. Quorum sensing in ESKAPE bugs: a target for combating antimicrobial resistance and bacterial virulence. *Biology*. 2022;11(10):1466.
- Santos-Lopez P, Caballero-Gonzalez M, Santos-Caballero M. Producción automática de la solución Carrel-Dakin. Cuatro inventores españoles en lucha contra la sepsis 1917-1926. *ANDELMA*. 2021; 19 (30):24-36
- Shaaban M, Elgaml A, Habib ESE. Biotechnological applications of quorum sensing inhibition as novel therapeutic strategies for multidrug resistant pathogens. *Microb Pathog*. 2019;127:138-43.
- Shamim A, Ali A, Iqbal Z, Mirza MA, Aqil M, Kawish SM, et al. Natural medicine a promising candidate in combating microbial biofilm. *Antibiotics*. 2023;12(2):299.
- Sharma A, Singh P, Sarmah BK, Nandi SP. Quorum sensing: its role in microbial social networking. *Res Microbiol*. 2020;171(5-6):159-64.
- Singh VP, Proctor SD, Willing BP. Koch's postulates, microbial dysbiosis and inflammatory bowel disease. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(7):594-9.
- Sionov RV, Steinberg D. Targeting the holy triangle of quorum sensing, Biofilm formation, and antibiotic resistance in pathogenic bacteria. *Microorganisms*. 2022;10(6):1239.
- Soberón-Chávez G, González-Valdez A, Soto-Aceves MP, Cocotl-Yañez M. Rhamnolipids produced by *Pseudomonas*: from molecular genetics to the market. *Microb Biotechnol*. 2021;14(1):136-46.
- Soto SM. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence*. 2013;4(3):223-9.

- Sturme MH, Kleerebezem M, Nakayama J, Akkermans AD, Vaughn EE, de Vos WM. Cell to cell communication by autoinducing peptides in gram-positive bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2002;81(1-4):233-43
- Taga ME, Bassler BL. Chemical communication among bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100 Suppl 2(Suppl 2):14549-54.
- Tan S, Tatsumura Y. Alexander Fleming (1881–1955): discoverer of penicillin. *smedj*. 2015;56(07):366-7.
- Thoendel M, Horswill AR. Identification of *Staphylococcus aureus* AgrD residues required for autoinducing peptide biosynthesis. *J of Biol Chem*. 2009;284(33):21828-38.
- Tierney AR, Rather PN. Roles of two-component regulatory systems in antibiotic resistance. *Future Microbiol*. 2019;14(6):533-52.
- Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, Zidan BRM, Mitra S, Emran TB, et al. Antibiotic resistance in microbes: history, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*. 2021;14(12):1750-66.
- Utari PD, Setroikromo R, Melgert BN, Quax WJ. PvdQ Quorum quenching acylase attenuates *Pseudomonas aeruginosa* virulence in a mouse model of pulmonary infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:119.
- Vacca F, Sala C, Rappuoli R. Monoclonal antibodies for bacterial pathogens: mechanisms of action and engineering approaches for enhanced effector functions. *Biomedicines*. 2022;10(9):2126.
- Vashistha A, Sharma N, Nanaji Y, Kumar D, Singh G, Barnwal RP, et al. Quorum sensing inhibitors as therapeutics: bacterial biofilm inhibition. *Bioorganic Chemistry*. 2023;136:106551.
- Vasquez JK, Blackwell HE. Simplified autoinducing peptide mimetics with single-nanomolar activity against the *Staphylococcus aureus* AgrC quorum sensing receptor. *ACS Infect Dis*. 2019;5(4):484-92.
- Wang LH, Weng LX, Dong YH, Zhang LH. Specificity and enzyme kinetics of the quorum-quenching *N*-acyl homoserine lactone lactonase (AHL-lactonase). *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(14):13645-51.
- Whiteley M, Diggle SP, Greenberg EP. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*. 2017;551(7680):313-20.
- Wright PP, Ramachandra SS. Quorum sensing and quorum quenching with a focus on cariogenic and periodontopathic oral biofilms. *Microorganisms*. 2022;10(9):1783.

- Xu D, Zuo J, Chen Z, Lv X, Hu J, Wu X, et al. Different activated methyl cycle pathways affect the pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology*. 2017;211:160-8.
- Yada S, Kamalesh B, Sonwane S, Guptha I, Swetha RK. Quorum sensing inhibition, relevance to periodontics. *J Int Oral Health*. 2015;7(1):67-9.
- Yates EA, Philipp B, Buckley C, Atkinson S, Chhabra SR, Sockett RE, et al. *N*-acylhomoserine lactones undergo lactonolysis in a pH-, temperature-, and acyl chain length-dependent manner during growth of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun*. 2002;70(10):5635-46.
- Zhang J, Feng T, Wang J, Wang Y, Zhang XH. The mechanisms and applications of quorum sensing (QS) and quorum quenching (QQ). *J Ocean Univ China*. 2019;18(6):1427-42.
- Zhu, Chen WJ, Bhatt K, Zhou Z, Huang Y, Zhang LH, et al. Innovative microbial disease biocontrol strategies mediated by quorum quenching and their multifaceted applications: a review. *Front Plant Sci*. 2023;13:1063393.
- Zhu, Kaufmann GF. Quo vadis quorum quenching? *Curr Opin in Pharmacol*. 2013;13(5):688-98.