



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: BLOQUEO DE LA DETECCIÓN DE
CUÓRUM

Autor: Celia Sánchez Martínez

Fecha: 30 de Junio de 2019

Tutor: Federico Navarro García

ÍNDICE

1. Abstract.....	2
2. Materiales y métodos.....	2
3. Objetivos.....	2
4. Introducción.....	3
4.1 ¿Qué es la detección del cuórum? ¿Por qué utilizarlo?.....	3
4.2 Moléculas autoinducidas.....	6
5. Resultados y discusión.....	8
5.1 Tipos de inhibidores de QS.....	8
5.2 Inhibidores de QS en la naturaleza.....	9
5.2.1 El mar como fuente de inhibidores de QS.....	11
5.3.2 Probióticos como moduladores de QS.....	11
5.3 Inhibidores sintéticos de QS.....	12
5.3.1 Antibióticos como inhibidores de QS.....	13
5.4 Resistencia a inhibidores de QS.....	14
5.5 Otras aplicaciones de los inhibidores de QS.....	15
6. Conclusiones: inhibición del QS como terapia.....	16
7. Bibliografía.....	18

1. ABSTRACT

Las bacterias utilizan un método de coordinación de la expresión genética llamada detección de cuórum (*quorum sensing*, QS), el cual es dependiente de la densidad de población. Este sistema se basa en el uso de unas moléculas llamadas autoinductores que permiten la activación de mecanismos genéticos que provocan la expresión de muchos tipos distintos de actividades que pueden hacer las bacterias cuando actúan conjuntamente, como serían la formación de biofilms, el desarrollo de virulencia o mecanismos de bioluminiscencia. Algunas de estas actividades mencionadas están relacionadas con fenómenos de patogenicidad o resistencia a antibióticos, los cuales se podrían evitar utilizando una molécula que bloquee esta comunicación. Para bloquearla, una opción interesante son los inhibidores del QS, de los cuales se investigan diversos tipos. Este innovador planteamiento en la forma de tratar infecciones bacterianas evitando los efectos negativos del incremento de población, abre la posibilidad a nuevas terapias alternativas a antibióticos, lo cual, teniendo en cuenta el panorama internacional relativo a las resistencias frente a numerosos tipos de antibióticos y la aparición de “bacterias superresistentes”, podría llegar a ser un gran avance en la terapéutica actual. Asimismo, estos inhibidores tienen grandes posibilidades de aplicación en otros campos aparte de la medicina para evitar formaciones de biofilms y otros problemas que dan las bacterias en otras áreas industriales.

Palabras clave: *quorum sensing*, inhibidores, antibióticos, resistencias, enzimas, autoinductores, biofilms, patogenicidad, bacterias.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para este artículo, se ha llevado a cabo una revisión, principalmente *on-line* de los materiales actuales disponibles con respecto al *quorum sensing*. Las bases de datos y buscadores que más se han utilizado son PubMed, Google Académico, Science Direct y Scielo entre otras.

Se ha utilizado un método de revisión bibliográfica, pues se trata de un artículo de revisión de los inhibidores de *quorum sensing* que existen hasta el día de hoy y de los proyectos futuros que existen en este campo. Para realizar la búsqueda se han utilizado las palabras: *quorum sensing*, inhibidores, resistencias, antibióticos, terapias alternativas, *quorum quenching* y sus equivalentes en español o inglés.

3. OBJETIVOS

Los objetivos de esta revisión bibliográfica son:

1. Conocer en profundidad en qué consiste el *quorum sensing* y los mecanismos existentes en la naturaleza para llevarlo a cabo, teniendo en cuenta la necesidad de desarrollar tratamientos alternativos a antibióticos.
2. Estudiar los distintos tipos de inhibidores para este fenómeno y conocer diversos ejemplos de estos.
3. Explicar los posibles usos de los inhibidores en el futuro, principalmente hablando de la terapéutica, pero también considerando su aplicación en otros campos.
4. Conocer las posibilidades y peligros de la propagación de resistencias frente a estas moléculas.

4. INTRODUCCIÓN

4.1 ¿Qué es la detección del cuórum? ¿Por qué utilizarlo?

La detección del cuórum o *quorum sensing* (QS) es un tipo de comunicación que se produce entre microorganismos, de célula a célula. Se produce gracias a unas moléculas que secretan denominadas autoinductores. Estas moléculas son percibidas por el resto de la microbiota, de la misma especie o de otras, presentes en la misma zona. Cuando una bacteria detecta un autoinductor y su cantidad, percibe la presencia de otras en la zona y del tamaño de sus poblaciones, lo que le hace modificar su comportamiento y la expresión de ciertos genes, hacia una coordinación en la actuación de toda la población de bacterias presentes. Es una forma de actuación conjunta que facilita la supervivencia de esa población, por ello es un mecanismo de comunicación conservado evolutivamente en los dominios *Arquea* y *Bacteria* [1]. En definitiva, el QS permite a estos microorganismos asegurarse de que en el medio hay una población suficiente para poder adaptarse a las circunstancias de su entorno de forma conjunta.

La liberación de los autoinductores provoca la expresión de muchos genes en las bacterias que los perciben. Esta expresión viene condicionada por la concentración de los autoinductores, los cuales se acumulan en el medio hasta llegar a una concentración límite (la cual está condicionada por la densidad de población) que permite la unión de la cantidad de moléculas necesarias con los receptores como para que se produzca la expresión de los genes dependientes de QS, que luego derivarán en una gran diversidad de actividades bacterianas como bioluminiscencia, formación de biofilms o virulencia. Aunque un aspecto importante para que se produzca este fenómeno es la densidad celular en el ambiente, la detección de cuórum también está condicionada por factores como la distribución espacial de las bacterias en el medio y el coeficiente de difusión del inductor en ese medio [2].

Para estudiar los mecanismos de inhibición de QS se ha utilizado como principal bacteria modelo *Pseudomonas aeruginosa* por tener uno de los sistemas de QS mejor caracterizados y por ser un patógeno humano en el que los mecanismos de QS que están relacionados con factores de virulencia están muy bien estudiados. La formación del biofilm de esta bacteria también es dependiente de QS, como es el caso de las poblaciones de *P. aeruginosa* residentes en los pulmones de los enfermos de fibrosis quística. Cuando el microorganismo coloniza los pulmones de estos enfermos, se agrupa en biofilms que se comienzan a desarrollar por la secreción y detección de moléculas de N-(3-oxododecanoil)-L-homoserín-lactona y N-butanoil-L-homoserín-lactona, autoinductores con estructura de acil-homoseín-lactona. Cuando las bacterias detectan estas moléculas comienza la formación previa de los pili necesarios para el desarrollo posterior del biofilm. Además, también son necesarias para el mantenimiento normal de la estructura de la biopelícula en este tejido pulmonar. La existencia de este biofilm es una de las causas por las que los antibióticos no consiguen eliminar las infecciones en este tipo de pacientes, disminuyendo la calidad de vida de estas personas, por lo que la aparición de moléculas con capacidad inhibidora de QS ayudaría mucho en la terapéutica de estas infecciones crónicas [3].

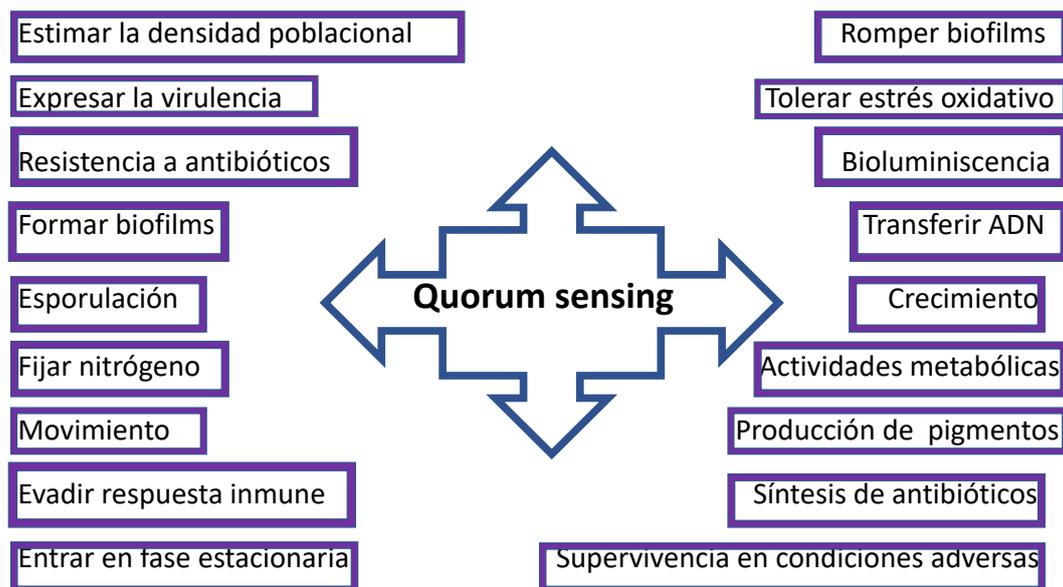


Figura 1. Actividades bacterianas reguladas por QS [23]

Esta actuación conjunta bacteriana que permite la detección del cuórum tiene efectos positivos y negativos. En relación con el hospedador, el QS entre bacterias, tanto de la misma especie como entre varias, favorece la protección y los beneficios que ofrece la microbiota del organismo. Sin embargo, cuando se habla de bacterias patógenas, el QS a veces provoca la formación de biofilms, la generación de toxinas u otros tipos de mecanismos de virulencia que facilitan la acción patógena de la bacteria [4]. Estos efectos negativos son los que se quieren abolir, para poder evitar o disminuir el uso de antibióticos, o al menos reducir las dosis de estos y así evitar la aparición de un número de resistencias mayor al ya existente. La actuación sinérgica de los inhibidores de QS con los antibióticos permitiría, teóricamente, la reducción de estos efectos negativos del uso de antimicrobianos, principalmente de aparición de resistencias a estos fármacos, y así, la conservación a largo plazo de medios contra las bacterias, lo cual, actualmente parece improbable.

En la Figura 1 aparecen reflejadas algunas de las actividades bacterianas conocidas que regula el QS. A continuación, se clasifican en beneficiosos y perjudiciales algunos ejemplos de detección de cuórum con el fin de dar a conocer las actividades con las que se relaciona:

- Como aspecto positivo, la detección del cuórum es responsable del biofilm protector que forman los lactobacilos de la flora vaginal, los cuales, por la fermentación del glucógeno de la zona, disminuyen el pH vaginal y evitan la colonización por bacterias patógenas [5]. También regula la síntesis de bacteriocinas, moléculas con capacidad antibiótica, en algunas especies de *Lactobacillus* mediante un péptido autoinductor [25].
- Como consecuencias negativas del QS para los seres humanos existen varios ejemplos. Uno de ellos son las infecciones de oído medio producidas por *Haemophilus influenzae*. En las infecciones crónicas producidas por esta bacteria a veces se usan tubos timpanostómicos que permiten airear el área, pues atraviesan el tímpano. En la superficie de estos tubos se pueden formar biofilms de las bacterias que están colonizando el oído medio, empeorando la situación [5]. A nivel intestinal, la producción de factores de virulencia en *Vibrio cholerae*, los cuales están regulados por QS, es otra muestra de los perjuicios que puede ocasionar el QS [7]. En la cavidad oral,

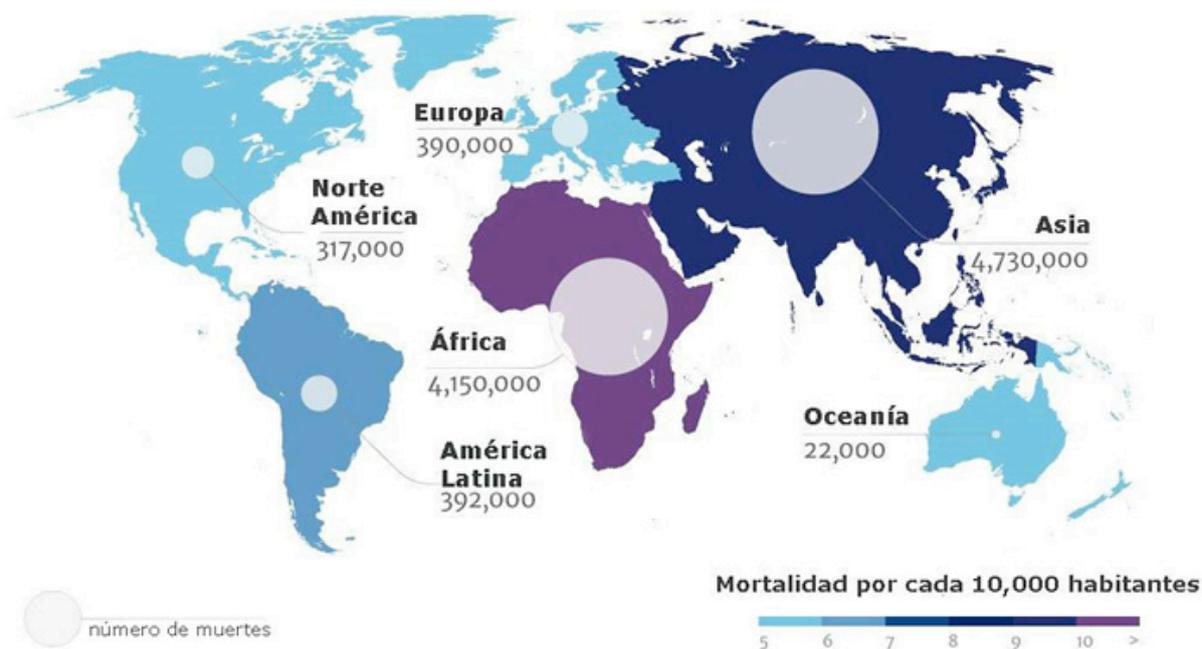
la formación de la placa dental también procede de un biofilm dependiente de QS que forman las bacterias presentes en esta área. Este biofilm es protector frente a bacterias patógenas, pero es fácilmente alterable por cambios en el pH que llevan a la formación de otros biofilms como el que crean algunos cocos Gram-positivos como *Streptococcus*, provocando la aparición de caries en los dientes, o periodontitis provocada por biopelículas de otras bacterias anaerobias Gram-negativas [6].

Sin embargo, una de las consecuencias negativas más preocupantes del QS es su relación con las resistencias a antibióticos. Muchas resistencias son seleccionadas por la llegada insuficiente de antibiótico a la bacteria y uno de los factores que se relaciona con este hecho son los biofilms. Los biofilms son matrices de exopolisacáridos que protegen a las bacterias que alberga su interior, tanto física como químicamente. Su formación es dependiente de mecanismos de QS en muchos casos, por lo que su inhibición podría ser una forma de evitarlos. Los biofilms impiden la penetración de todo tipo de sustancias, entre ellas, los antimicrobianos. La baja capacidad de penetración del fármaco en estas biopelículas, favorece la aparición de estas resistencias pues no se llega a la concentración mínima inhibitoria del antimicrobiano, por lo que ni bacteriostáticos ni bactericidas podrían llegar a eliminar esa infección, produciéndose la cronicación de la infección y facilitando la selección de bacterias resistentes a los antimicrobianos.

Actualmente, hay un gran número de especies bacterianas multirresistentes a varios tipos de antimicrobianos, lo que constituye un peligro real para la vida humana. De hecho, se calcula que a nivel mundial al día mueren 700.000 personas por enfermedades resistentes a fármacos, de las cuales 230.000 lo son por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistentes a antimicrobianos [8]. Estos cálculos también pronostican que en 2050 podría haber 10 millones de muertes al año por estas resistencias [5], con la distribución representada en la Figura 2, que atribuye gran parte de esas muertes a países con un nivel de pobreza alto.

La OMS incluye entre los patógenos resistentes prioritarios a: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Proteus spp*, *Morganella spp*, *Providencia spp*, todas estas con una prioridad crítica, ya que son resistentes a carbapenemas; y con prioridad alta encontramos a *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp*, *Neisseria gonorrhoeae*, pues son resistentes a vancomicina, meticilina y a fluorquinolonas. Finalmente, con una prioridad media aparecen *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Shigella spp*, por su alta resistencia a penicilinas, ampicilina y fluorquinolonas [9].

Muchas de las bacterias mencionadas, como *Helicobacter pylori* o *Klebsiella pneumoniae*, basan algunos de sus mecanismos de resistencia a antimicrobianos en los biofilms. La protección que otorgan estos facilita la cronicación de las infecciones de las bacterias que viven en ellos, como se ha indicado. Al ser los biofilms producto de la interacción entre bacterias por mecanismos dependientes de QS, el estudio de los inhibidores de QS es una estrategia innovadora que podría resultar muy útil en infecciones complicadas, como terapia coadyuvante a los antibióticos.



Review on Antimicrobial Resistance - <https://amr-review.org/>

Figura 2. Representación gráfica de la distribución mundial de muertes asociadas a resistencias a antimicrobianos en 2050 [24].

4.2 Moléculas autoinductoras

Como se ha mencionado previamente, el mecanismo de funcionamiento del QS requiere de unas moléculas llamadas autoinductores. Estos se caracterizan por ser capaces de acumularse en un medio, unirse a receptores de otras bacterias y activar ciertos genes que dan lugar a actividades específicas en las bacterias, por lo que se puede decir que tienen cierto control en la expresión génica de una población y pueden ser determinantes en el comportamiento de las poblaciones bacterianas en el medio [11].

Existen varios tipos de estas moléculas, que pueden ser comunes a todas las bacterias con este sistema, ser específico de alguna especie o estar compartido por varias especies que tienen características comunes. En general, se clasifican en:

- A. Autoinductores de tipo 1 (AI-1): normalmente presentes en bacterias Gram-negativas. Estas moléculas constan de un anillo homoserin-lactona y de una cadena de acilos con longitud y saturación variable, y se denominan acil-homoserín-lactonas (AHL) [10]. Las enzimas de este tipo de moléculas suelen estar especializadas en sintetizar un solo tipo de ellas. Se unen a receptores tipo LuxR, los cuales se unen al ADN en mayor o menor medida, dependiendo de la concentración de estos autoinductores en el medio. Teóricamente, cada especie bacteriana tiene enzimas y receptores específicos para un tipo de AI-1, pero las especies que usan varios tipos de autoinductores, como *Pseudomonas aeruginosa* no se rigen por esta especificidad [10].

- B. Péptidos: pueden ser lineares o cíclicos, son de pequeño tamaño y los suelen utilizar bacterias Gram-positivas. Los receptores para estos péptidos suelen ser quinasas/fosfatasa presentes en la membrana celular, que fosforilan en distinto grado a la molécula provocando una distinta expresión en los genes regulados por el QS [4, 10].
- C. Autoinductores-2 (AI-2): este término hace referencia a un gran grupo de moléculas que se caracterizan por ser furanonas cíclicas que, además, son susceptibles de sufrir modificaciones químicas en el medio que las convierten en otras furanonas, también con capacidad inductora. Estas moléculas son utilizadas tanto por bacterias Gram-positivas como Gram-negativas, y no son específicas de cada especie, por lo que servirían como comunicación interespecie en el medio [4, 11].

Hay otros tipos de autoinductores que no están mencionados en estos apartados, ya que la percepción del cuórum se puede llevar a cabo con moléculas que tienen otras funciones en la bacteria [4] y esta falta de especificidad puede llevar a efectos que no son los deseados cuando se busca la inhibición del QS, por lo que están menos estudiados. Además, si se utilizara la inhibición de estas moléculas, que no son específicas como autoinductores, para bloquear el QS podrían seleccionarse resistencias a este bloqueo, pues estas moléculas, al tener otras funciones estarán implicadas en el crecimiento de la bacteria, y su inhibición podría afectar al desarrollo de la vida de la bacteria.

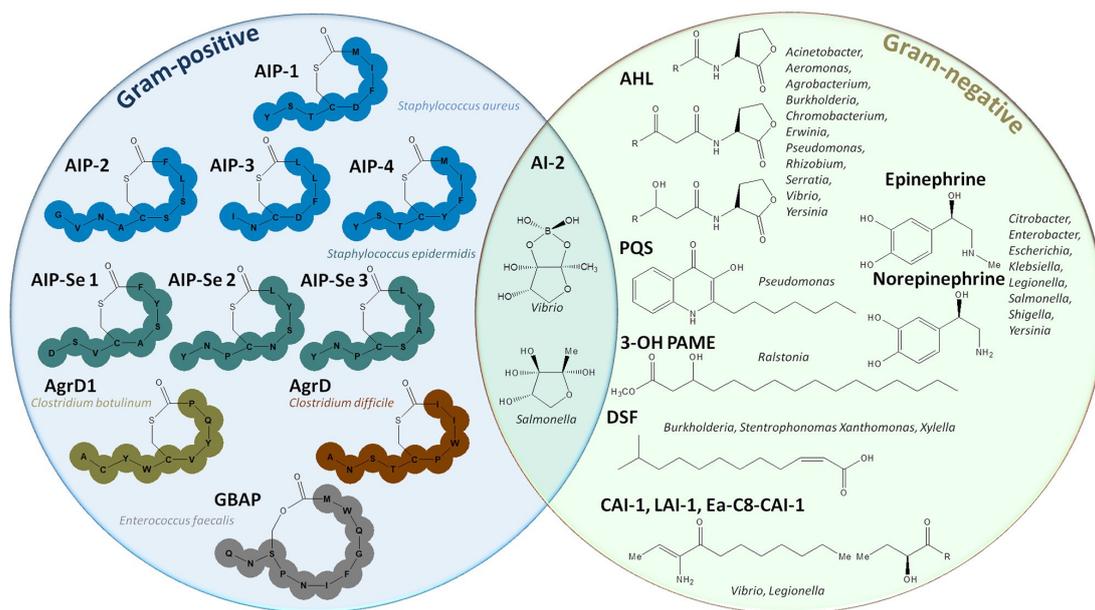


Figura 3. Representación gráfica del uso de moléculas autoinductoras por parte de las bacterias Gram positivas y Gram negativas. En el círculo de la izquierda se muestran los péptidos utilizados por bacterias Gram positivas, en el de la derecha los diferentes tipos de moléculas que usan las Gram negativas y la intersección de los círculos representa a las moléculas autoinductoras AI-2, que son comunes a los dos tipos de bacterias [11].

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Tipos de inhibidores de QS

La inhibición del QS se puede conseguir de varias formas y es por lo que hay diferentes estrategias dirigidas a distintas fases del proceso. De forma general, se pueden distinguir tres formas de bloqueo de esta percepción: A) evitando la síntesis de los autoinductores, B) utilizando antagonistas o moléculas que secuestren a los autoinductores o C) creando enzimas que degraden o modifiquen estas moléculas para que no puedan actuar [4, 10]. La Figura 4 muestra una ilustración que resume estas formas de actuación de los inhibidores de QS.

- A) Inhibir la síntesis de autoinductores es una de las estrategias planteadas para evitar la formación de biofilms. Se puede conseguir de varias formas:
 - 1. Utilizando moléculas inhibitoras de las enzimas que se encargan de producir las moléculas autoinductoras, como cicloleucina que inhibe la síntesis de AHL
 - 2. Usando iones como el ión Cadmio (Cd^{2+}) [12] que inhibe a los AI-1 de *Chromobacterium violaceum* por inhibición de la síntesis del receptor para esta molécula, impide la transcripción de los genes que codifican para este.
 - 3. Otras estrategias están dirigidas a la mutación de los genes responsables de la formación de las enzimas que sintetizan los autoinductores [12], aunque la mutación de genes de la bacteria en infecciones *in vivo* es más complicada y menos aplicable en la práctica.
- B) Para bloquear la captación de autoinductores se han usado principalmente:
 - 1. Anticuerpos contra estos, que se unen a la molécula y evitan que esta pueda actuar en su receptor, esta sería una forma de antagonizar estas moléculas [12].
 - 2. Moléculas que compiten con los autoinductores por la unión al receptor, como ocurre con las furanonas, que tienen mayor afinidad por el receptor y provocan una inhibición de la actividad de éste de manera dosis-dependiente [10].
 - 3. Inhibidores del transporte de los autoinductores al exterior de la molécula. Esto se consigue mediante la inhibición de las bombas encargadas de transportar los autoinductores al exterior celular, con nanopartículas de cobre o plata [12].
- C) Las enzimas utilizadas para interferir con la detección del cuórum normalmente son obtenidas de otras bacterias [4]:
 - 1. El objetivo más común de este tipo de enzimas son moléculas autoinductoras tipo AI-1. Existen muchos tipos de enzimas que destruyen las AHL, como las acil-homoserin lactonasas, acilasas y oxidorreductasas, las cuales destruyen el anillo de la lactona, la cadena acilada o catalizan reacciones oxidorreductoras para que la molécula pierda su forma activa, respectivamente [4]. Este tipo de inhibidores han demostrado ser más eficaces que los antagonistas químicos de autoinductores [13].
 - 2. Para los AI-2 hay mucha menos variedad de enzimas eficaces conocidas, sin embargo, se cree que ciertos metabolitos secundarios de plantas y otras bacterias son reguladores de estos autoinductores para controlar las poblaciones bacterianas de un medio [4].
 - 3. Contra los péptidos autoinductores tampoco se suele buscar una alternativa enzimática para inhibirlos, aunque existen metabolitos con radicales oxidativos que desestabilizan la estructura peptídica y evitan la actuación de la molécula [4].

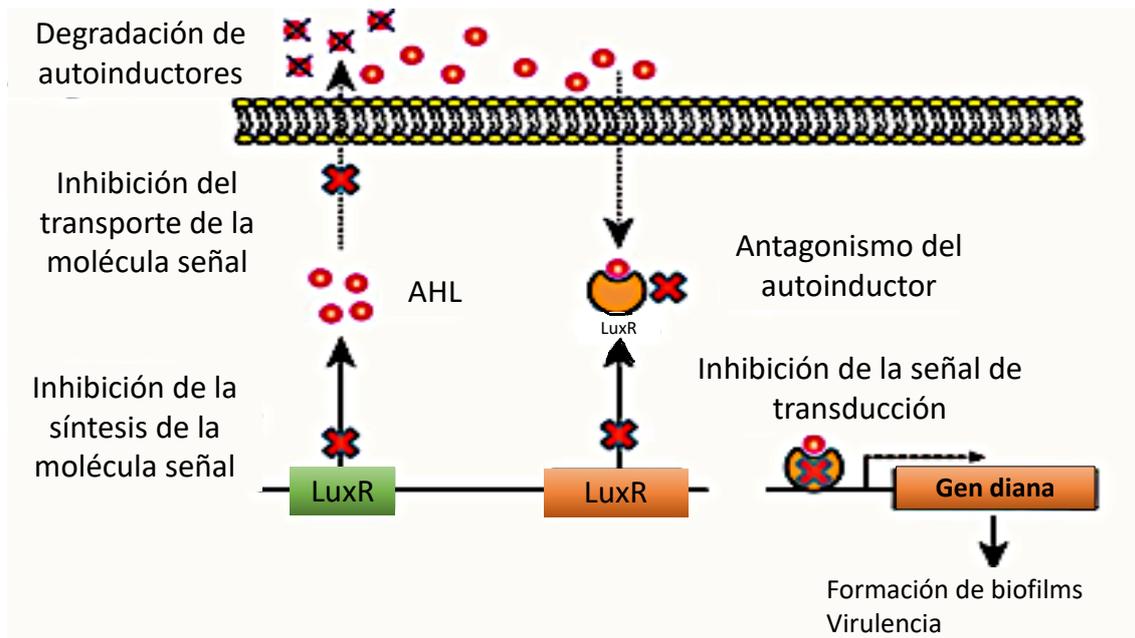


Figura 4. Ilustración de los tipos de inhibición de QS. Incluye una representación de la degradación de moléculas autoinductoras, del transporte de estas moléculas, de la síntesis de estas, el uso de antagonistas de autoinductores y de la transducción de la señal de síntesis [12].

El diseño de los inhibidores se debe llevar a cabo teniendo en cuenta una serie de factores comunes a todos los tipos: los inhibidores deberían ser moléculas pequeñas que inhibieran la expresión genética deseada sin intervenir en otros procesos bacterianos (tanto si son positivos como negativos porque esto podría influir en la aparición de resistencias, suponiendo que la interferencia en el QS no contribuya de por sí), y siendo específicas para el tipo de autoinductor relacionado con el agente patógeno. Además, en el caso de uso en patologías humanas, como cualquier fármaco, no puede ser tóxico y no debe ser metabolizado antes de llegar a su lugar de acción (como son moléculas pequeñas es fácil que se degraden antes de tiempo, lo cual es un problema) [1, 3].

5.2. Inhibidores QS en la naturaleza

La existencia de los organismos pluricelulares se basa en la posibilidad de comunicación entre células mediante diversas moléculas que la evolución ha ido seleccionando, con diferencias entre las distintas especies. El QS podría ser a su vez una forma más primitiva de este tipo de comunicación celular. Aunque sea entre individuos independientes, es posible que sea básico para la supervivencia bacteriana y es por esa razón por la cual existirían en la naturaleza inhibidores de las moléculas que actúan como autoinductores. Hay inhibición de los autoinductores tanto entre especies bacterianas, como entre organismos superiores (hongos, plantas, animales) [10].

Un ejemplo de este tipo de moléculas presentes en la naturaleza que inhiben la detección del cuórum son las furanonas. A pesar de su falta de utilidad terapéutica por su alta toxicidad, estas moléculas obtenidas de algunas especies de algas marinas del género *Delisea*, impiden el crecimiento de bacterias tanto Gram-positivas como negativas, pues afectan tanto a los autoinductores AI-1 como AI-2 [10].

Para bacterias Gram-positivas, cuyos inhibidores están algo menos estudiados, el compuesto mejor caracterizado es un inhibidor del péptido autoinductor de *Staphylococcus aureus*, el cual es un producto endógeno de la propia bacteria, es decir, lo produce ella misma. Este inhibidor es capaz de disminuir el daño producido por la bacteria en modelos animales, bloqueando la fosforilación necesaria para que se produzca la detección del cuórum [14].

Otra fuente de origen de estos inhibidores se puede encontrar en el extracto de diversos frutos y otras partes de la planta, como sería el caso del extracto de semilla de alfalfa (*Medicago spp.*) que inhibe algunos tipos de AI-1, o el del ajoeno y la alicina (*Allium sativum*) que afectan a algunos de los genes reguladores de QS de *Pseudomonas aeruginosa* evitando la formación del biofilm, y actuando así sinérgicamente con algunos antibióticos como la tobramicina [10].

Algunos extractos acuosos de frutas y plantas comestibles como la piña muestran actividad inhibidora *in vitro* frente a la detección del cuórum sin bloquear el crecimiento de las colonias bacterianas [14].

Otro ejemplo de inhibición de QS en la naturaleza es el que se da entre las distintas especies de bacterias en su propio medio, lo que regula las poblaciones y demuestra el porqué de la importancia de una microbiota adecuada en los organismos. Los dipéptidos cíclicos son moléculas que producen numerosas especies bacterianas, incluyendo bacterias presentes en la microbiota de los organismos como los lactobacilos vaginales, y que pueden tanto inhibir como fomentar la actividad de las AHL, regulando de esta forma la aparición de problemas sanitarios causados por descompensaciones en la microbiota bacteriana, pues pueden evitar el QS entre bacterias patógenas y evitar la virulencia de estas. Esto ocurre con *Lactobacillus reuterii*, que es capaz de inhibir los genes regulados por QS de *Staphylococcus aureus* para mantener el medio vaginal sano [10]. En la Tabla 1 aparecen reflejados otros ejemplos.

Finalmente, otra fuente de inhibidores de detección de cuórum son los bacteriófagos, de los cuales se ha encontrado alguna especie que secreta enzimas inhibidoras de la formación de biofilms, particularmente los bacteriófagos T7 contra *Pseudomonas aeruginosa*. [15].

Tabla 1. Ejemplos de inhibidores de AHL en la naturaleza [16]

Categoría	Especie	Inhibidor	Mecanismo de acción
Bacteria	<i>Bacillus cereus</i>	Ciclo-L-Pro-L-Tyr	Antagonismo del autoinductor
Hongo	<i>Aspergillus spp.</i>	Ácido kójico	Antagonismo del autoinductor
Hongo	<i>Candida albicans</i>	Farnesol	Inhibe la síntesis del autoinductor
Planta	<i>Curcuma longa</i>	Curcumina	Antagonismo del autoinductor
Planta	<i>Rheum rhabarbarum</i>	Emodina	Antagonismo del autoinductor (de <i>P.aeruginosa</i>)
Animal	Abejas	Miel y própolis	Antagonismo del autoinductor
Bacteria	<i>Staphylococcus delphini</i>	Yayurea A y B	Inhibe la síntesis del receptor

5.2.1. El mar como fuente de inhibidores de QS

Una fuente de moléculas capaces de bloquear la detección del cuórum cada vez más importante es el ecosistema marino. Es el caso de la furanona C-30 que procede de una furanona del alga *Delisea pulchra*. Esta molécula es una de las más efectivas conocidas contra bacterias Gram-negativas, en particular contra *Pseudomonas aeruginosa*. Se ha visto que este compuesto es eficaz frente a factores de virulencia dependientes de QS, aunque se han encontrado resistencias frente a él tanto *in vitro* como *in vivo* [14]. Otra furanona de procedencia marina es la furanona C-56, la cual impide la formación de biofilms dispersándolos, aunque no impide que las bacterias sigan unidas al sustrato [14].

A nivel oceánico, la concentración de bacterias es baja y, además, al pH del agua del mar, la estabilidad de moléculas autoinducidas como las AHL es bastante inferior a la estabilidad en los ecosistemas terrestres. No obstante, se han encontrado microhabitats de cepas marinas de bacterias productoras de AI-1, capaces de producir biofilms en esponjas o cnidarios [17]. Este tipo de autoinductores regulan también la producción de enzimas hidrolíticas de compuestos de carbono y contribuyen a la deposición y remineralización de los fondos [17].

En los ecosistemas marinos, los inhibidores más investigados son enzimas inhibidoras de AI-1 que se encuentran en corales, esponjas, otras bacterias presentes en este ecosistema como *Planomicrobium chinense* o *Citomicrobium spp.* (con una frecuencia de entre el 2 y 46% superior a los encontrados en bacterias terrestres), e incluso en peces y bivalvos [17].

Para encontrar bacterias capaces de producir enzimas inhibidoras, se hizo un estudio en el mar Mediterráneo en el que se aislaron 12 cepas con una capacidad bastante alta de inhibir AI-1, tanto de cadena larga como corta. Algunas de las bacterias que obtuvieron mejores resultados fueron varias especies del género *Erythrobacter spp.* entre otras, pues produjeron enzimas inhibidoras de QS del tipo lactonasa y acilasa. Tras los análisis metagenómicos del agua estudiada se comprobó que los genes que codifican para acilasas eran más frecuentes que los de lactonasa [17].

Estos, entre otros ejemplos, muestran la importancia de las bacterias y sus mecanismos de QS a nivel marino. Dada esta influencia, otros seres vivos, tanto eucariotas como procariotas han creado estrategias para evitar algunas de estas funciones relacionadas con la detección del cuórum. Del estudio de estas moléculas y de la genética asociada a estas enzimas, puede que se obtengan nuevos compuestos con capacidad terapéutica, que, además, se podrían obtener de cultivos acuáticos de bacterias, o de la producción de estas enzimas como proteínas heterólogas en otras bacterias como ocurre con otros fármacos como insulinas o anticuerpos monoclonales.

5.2.2 Probióticos como moduladores de QS

Como ya se ha indicado en esta revisión, las propias bacterias tienen capacidad moduladora de la detección del cuórum. Esta capacidad la utilizan para mandar señales entre ellas con el fin de inhibir el crecimiento de los microorganismos que les resulten perjudiciales, pero también para favorecer el crecimiento de otras especies con las que les resulte beneficioso interactuar. Es por esto por lo que el uso de otras bacterias para tratar infecciones podría ser un recurso terapéutico innovador. Al igual que se usan los probióticos con bacterias capaces de restablecer la microbiota intestinal, se podrían utilizar bacterias con capacidad de producir moléculas inhibidoras de detección de cuórum, de forma que se evite la virulencia, o al menos, la formación de los biofilms que impiden el paso de los antibióticos. Estas bacterias vivas se podrían administrar, aparte de para la microbiota intestinal y vaginal, como existen hoy día formas farmacéuticas, a nivel dérmico, bucofaríngeo u ótico.

Siguiendo este principio se aplicaron bacterias de la microbiota vaginal e intestinal en la piel. De esta forma se comprobó que las bacterias aplicadas como probióticos se adherían a la queratina de la piel y mediante la producción de ácidos orgánicos evitaban la adhesión y la formación de biofilms por parte de otras bacterias patógenas productoras de disbiosis cutánea. El mecanismo de inhibición de la formación de biofilms fue en parte debido a la disminución de pH que producen los ácidos orgánicos, pero también a la capacidad inhibidora de QS pues estos ácidos consiguen modificar algunas moléculas AHL de cadena corta impidiendo así su unión al receptor. Entre las especies utilizadas destacan las del género *Lactobacillus* que consiguieron evitar el desarrollo de los biofilms de los microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, aunque solo *Propioniferax innocua* pudo eliminar biofilms ya formados. Así se comprobó que los probióticos a nivel dérmico pueden ser una terapia potencialmente complementaria a las utilizadas actualmente para tratar las disbiosis cutáneas, que aparte de efectos secundarios, pueden ser resistentes a antibióticos, como ocurre con algunas cepas de *S. aureus* [19].

Los ácidos orgánicos producidos por bacterias que se pueden utilizar como probióticos, como es el caso de *Pediococcus acidilactici*, han demostrado ser inhibidores de las enzimas de síntesis de AI-1 de *Pseudomonas aeruginosa*, evitando la formación de toxinas, biofilms y otras proteínas de carácter patogénico para el hospedador [20].

Estos ejemplos muestran las posibilidades de los probióticos como inhibidores de QS, independientemente de sus aplicaciones para otras patologías. Sin embargo, otro posible mecanismo de acción de esta terapia es su actuación como agonistas de QS. Con los probióticos se podría favorecer el crecimiento de bacterias positivas para el organismo mediante la producción de autoinductores que ayuden al desarrollo de estas poblaciones bacterianas.

5.3. Inhibidores sintéticos de QS

Muchos de los inhibidores de QS son fármacos aprobados para otras indicaciones como el 5-fluoruracilo, un citostático usado en quimioterapia en el cual se han visto propiedades inhibitorias de detección de cuórum [14]. En *Acinetobacter baumannii* se han hecho estudios del uso de este fármaco en combinación con otros quimioterapéuticos como cisplatino y mitomicina C y se han obtenido resultados positivos en larvas de *Galleria melonela*, disminuyendo su capacidad de formación de biofilms en la larva [18].

Dentro de las enzimas que degradan los autoinductores AI-1, como lactonasas y acilasas, un ejemplo estudiado es el uso de bacterias de *Lactobacillus plantarum* modificadas genéticamente para expresar una lactonasa procedente de *Bacillus thuringiensis*. Esta enzima fue eficaz a nivel de laboratorio en la inhibición de la formación de biofilms de *P. aeruginosa*. [14].

Algunas moléculas que se han encontrado con características antagonistas de autoinductores AI-1 son el ácido salicílico o el ácido fenilacético. Ambas son antagonistas de AHL pues impiden la unión de estas moléculas con el receptor [14]. En la Tabla 2 se incluyen otras moléculas con más mecanismos de inhibición de QS.

Otro compuesto eficaz frente a *Staphylococcus aureus* es el diflunisal, un antiinflamatorio no esteroideo que evita la producción de factores de virulencia de esta bacteria también por mecanismos de inhibición de QS. Impide la formación de α -hemolisina y de la toxina modulina- α , evitando así el daño producido por el microorganismo. Por este hecho, ha sido aprobado para el tratamiento de *S. aureus* resistente a meticilina en Estados Unidos por la FDA (*Federal Drugs Administration*) [14].

Tabla 2. Otros ejemplos de inhibidores sintéticos de QS [6]

Inhibidor	Efecto inhibidor	Efecto en crecimiento
Tiazolidinedionas y dioxazaborocanos	Inhibición de la bioluminiscencia en <i>Vibrio harveyi</i> por bloqueo del receptor de AI-1	A concentraciones inferiores a 1000 μM no hay efecto.
Sales N,N-disustituidas de imidazol	Inhibición de la bioluminiscencia de <i>Escherichia coli</i> pSB401 por bloqueo del receptor de AI-1	La concentración mínima inhibitoria fue de entre 200 y 2000 μM
Bromo-tiofenonas	Inhibición de la bioluminiscencia de <i>V. harveyi</i> por mecanismo desconocido	No tiene efecto bactericida
Antagonistas de síntesis con estructura AHL	Inhibición de la fluorescencia en <i>Pseudomonas putida</i> por bloqueo de AI-1.	No tienen efecto bactericida

5.3.1. Antibióticos como inhibidores de QS

Desde el descubrimiento de los antibióticos hasta el momento actual, estos han sido el tratamiento principal de las infecciones producidas por bacterias, y sus mecanismos de acción se basan en evitar el crecimiento bacteriano o en eliminar la célula. No obstante, diversos estudios muestran que en determinadas ocasiones el antibiótico no disminuye la población bacteriana que se quiere eliminar [11], pero aun así ayudan al paciente a mejorar. Esto podría deberse a que estos antibióticos actuarían como inhibidores de QS, impidiendo el mecanismo de virulencia de los patógenos que se querían eliminar, disminuyendo la gravedad de la enfermedad y sus síntomas, aunque la infección siga presente en el organismo. Es el caso de la azitromicina, un antibiótico de la familia de los macrólidos, que se utiliza en el tratamiento de enfermedades como la fibrosis quística porque es capaz de mejorar la capacidad pulmonar de los pacientes. En este caso su mecanismo de acción no es el de un antimicrobiano, pues no disminuye la cantidad de bacterias en el tejido pulmonar, pero sí la virulencia producida por estas [11]. Este hecho se ha atribuido a que produce una interferencia en la detección del cuórum, y evita que las bacterias presentes en ese tejido provoquen el incremento de la inflamación pulmonar, es decir, evita la virulencia.

Esto sería una muestra de que además de los usos conocidos de los antibióticos, estos podrían tener cualidades alternativas según la especie bacteriana contra la que se utilicen o las condiciones de la infección tratada, abriendo nuevas posibilidades de tratamiento, como el uso sinérgico de antibióticos. Actualmente la combinación de varias terapias antibióticas se hace para evitar resistencias, basándose en la forma de eliminar a la bacteria, pero también podría cimentarse en la inhibición de QS y eliminación de la población bacteriana, incrementando la efectividad del tratamiento.

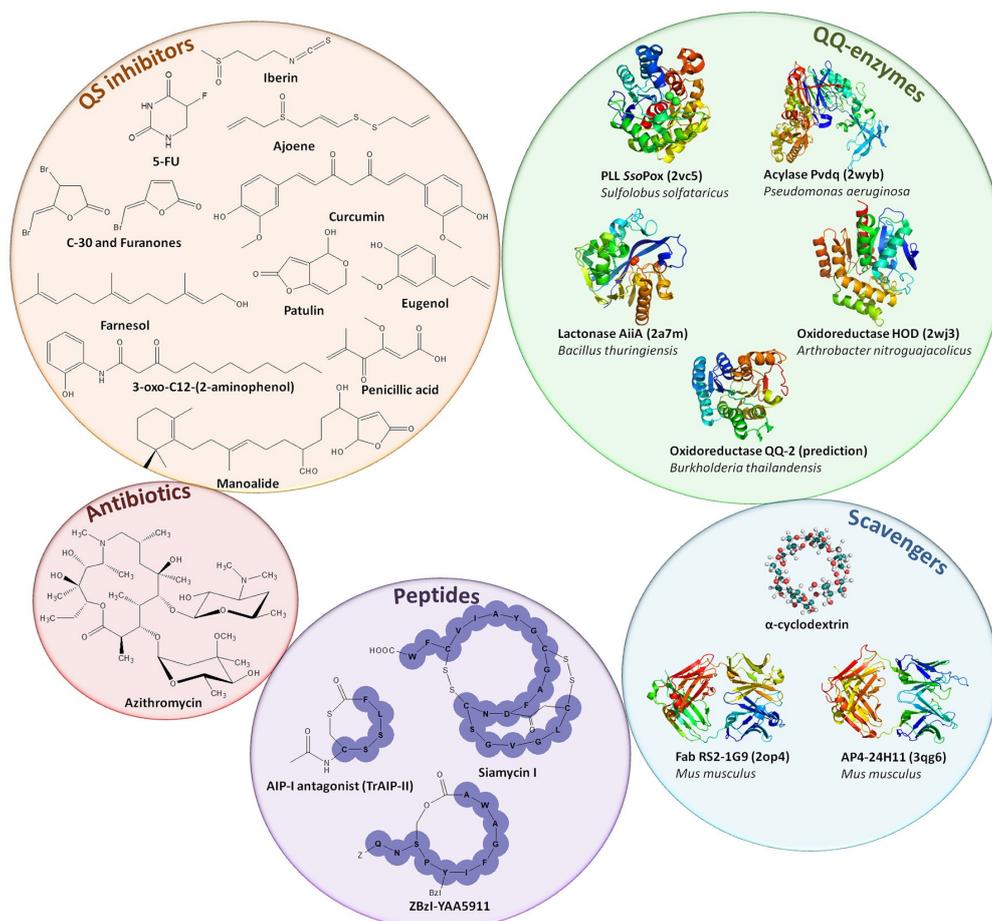


Figura 5. Representación de los distintos agentes inhibidores de QS. En el círculo naranja, los inhibidores de detección de cuórum; en el verde, las enzimas que rompen autoinductores; en el azul anticuerpos contra los autoinductores, en el morado péptidos inhibidores de Gram-positivas; y en el rojo antibióticos con capacidad inhibidora de QS [11].

5.4. Resistencia a los inhibidores de QS

La inhibición de la detección del cuórum se basa en evitar algunos de los factores que facilitan la persistencia de las bacterias en un medio, y que de alguna manera pueden causar daño en el hospedador cuando es el medio colonizado. Por el contrario, en el caso de los antibióticos se eliminan las infecciones por mecanismos bactericidas o bacteriostáticos, que, finalmente acaban con la vida bacteriana. El problema de las resistencias aparece en las poblaciones en las que existe una mutación para la diana del antibiótico, pues esta mutación se selecciona, pudiendo llegar a propagarse. Es por esto por lo que se estudia la inhibición de QS, porque al no acabar con la vida de esas bacterias se cree que los inhibidores tienen menos posibilidades de seleccionar resistencias.

El problema de esta suposición es que se basa en que los mecanismos de QS no son esenciales para la vida de estos microorganismos y, además, se desconoce si al evitar mediante estos inhibidores la virulencia o el desarrollo de biofilms, se afecta a aspectos básicos de la vida de la bacteria [6]. Este hecho supone una complicación a la hora de crear moléculas destinadas a ser fármacos contra el QS pues intentar inhibir un factor de virulencia puede afectar a algún proceso metabólico, y de esta forma condicionar la vida de la bacteria y seleccionar resistencias [17].

Otro factor a tener en cuenta es la dosis que se administra de estos inhibidores, pues a ciertas concentraciones pueden llegar a ser bactericidas, produciendo un efecto que no se desea en estas terapias [6]. Asimismo, la especificidad de los inhibidores de detección de cuórum no es muy alta en la mayoría de los casos, lo que, ante el desconocimiento de la totalidad de genes que regula el QS, puede llegar a ser un problema por la selección de resistencias al existir la posibilidad de condicionar la vida bacteriana [6].

Sin embargo, a pesar de esta posibilidad se han llevado a cabo pocos estudios para demostrar si esto ocurre en la naturaleza. Uno de ellos consistió en mezclar dos poblaciones de *P. aeruginosa*, una sensible a un inhibidor de QS y otra resistente y se cultivaron con un inhibidor de QS. El medio estaba enriquecido con adenosina como fuente de carbono que las bacterias eran capaces de usar para su propio crecimiento siempre que dispusieran de las enzimas necesarias para degradarla. La síntesis de esas enzimas dependía de la detección de cuórum. Las bacterias resistentes al inhibidor podían crear las enzimas y crecer libremente, pero las células sensibles veían su crecimiento limitado, de forma que las bacterias resistentes crecían más rápidamente [21].

En este estudio se demostró, que una resistencia se puede propagar en ciertas condiciones, sobre todo de estrés celular, seleccionando a la población resistente [21]. Esto implicaría que, si una población bacteriana adquiere resistencia a un inhibidor de QS, ésta sería capaz de triunfar entre las otras poblaciones. Por tanto, se puede decir que el QS sí podría llegar a condicionar la vida de las bacterias como ocurre con los antibióticos y la selección de resistencias a estas nuevas moléculas no es una posibilidad tan remota como se creía, aunque se sigue considerando complicada.

5.5 Otras aplicaciones de los inhibidores de QS

La inhibición de la comunicación intercelular bacteriana, además del uso que más se ha tratado en este trabajo, que es evitar la formación de biofilms a nivel sanitario, tiene otras aplicaciones, dirigidas en su mayoría a resolver de forma alternativa problemas industriales, agrícolas o ganaderos.

Actualmente, la protección de los cultivos agrícolas de las plagas se basa en pesticidas y en introducir mutaciones en ciertos genes en las plantas para evitar la susceptibilidad a estos patógenos. Sin embargo, algunas plagas producidas por bacterias podrían ser prevenidas mediante el uso de inhibidores de detección de cuórum. Por ejemplo, la co-inoculación de cepas mutadas de *Burkholderia spp.* con un gen que codifica una lactonasa junto con la bacteria patógena *Burkholderia glumae* reduce la podredumbre de las plántulas de arroz, pues inhibe la producción del factor de virulencia de *B. glumae* ya que esta depende de un proceso de QS [4]. Otra posibilidad sería transferir los genes que codifican esas proteínas a las plantas y que ellas mismas produzcan los inhibidores. Esto se probó en plantas de tabaco y de patata con los genes de *Bacillus spp.* que codificaban una lactonasa que rompe el anillo lactónico del AI-1 que produce *Pectobacterium carotovorum* (patógeno habitual de estas plantas). El resultado demostró un incremento en la tolerancia a la presencia de este patógeno, reduciendo los síntomas en las plantas [22].

A nivel de piscifactorías se utilizan gran cantidad de antibióticos para evitar grandes pérdidas de crías de marisco o peces por la colonización con *Aeromonas spp.* y *Vibrio spp.* Sin embargo, mediante el uso de bacterias productoras de enzimas con capacidad para degradar AI-1, o la combinación de estas con probióticos, inmunoestimulantes y otros tratamientos en investigación [22], se podría reducir el uso de antibióticos y los riesgos medioambientales que

esto conlleva, puesto que se ha conseguido incrementar la supervivencia tanto de peces como de gambas cuando se inoculaban con ese tipo de bacterias [4].

Un uso alternativo muy útil para la industria farmacéutica es el uso de estos inhibidores para evitar la bioincrustación que se produce en los biorreactores que utilizan membranas para filtrar los productos. La incrustación biológica también es producto de la aparición de biofilms, por lo que la inhibición de QS es un mecanismo innovador para evitarla [4]. De hecho, actualmente, se han utilizado lactonasas para impedir la bioincrustación en membranas de osmosis inversa [13].

Los inhibidores de QS también se han estudiado para la desinfección material médico. Las infecciones nosocomiales y post quirúrgicas son un gran problema, sobre todo, porque los patógenos presentes en los hospitales en muchos casos son resistentes a varios antibióticos y son infecciones difíciles de tratar y que ocasionan muchos problemas en los pacientes. Por eso la prevención de éstas es el método más eficaz de evitar estos problemas. El bloqueo de la detección del cuórum podría ser una estrategia interesante y con posibilidad de combinarse con los medios actuales [22].

6. CONCLUSIONES: INHIBICIÓN DE QS COMO TERAPIA

Para finalizar, tras comprobar que la inhibición del QS es un campo de investigación de plena actualidad y que podría ofrecer grandes posibilidades a la terapia con antibióticos actual, es necesaria más investigación en este campo para poder afirmar que el uso en humanos será posible. A pesar de la importancia de la detección del cuórum en la patogenia, para que la inhibición de QS emerja como terapia real, es necesario proponer algunas metas:

1. Encontrar inhibidores más específicos, tanto para especies bacterianas, como para procesos realizados por las bacterias mediante este fenómeno, pues estos inhibidores podrían afectar a la microbiota sana de los organismos provocando desajustes y más perjuicios que beneficios.
2. Es necesario conocer la toxicidad de las moléculas que se desarrollen para las propias bacterias, porque en algunos casos, estas sustancias pueden ser bactericidas a ciertas concentraciones (muy altas), contradiciendo así uno de los principios en los que se basa la inhibición de la detección del cuórum como terapia anti-patogenia y que la haría susceptible de resistencias.
3. Las moléculas que vayan a ser utilizadas como fármacos deben ser seguras para el ser humano y ser eficaces frente a las bacterias. Ambos son factores que tienen que conseguir grandes avances.
4. Hay que contrastar la importancia real de la resistencia a los inhibidores de QS en la naturaleza, para conocer si podría llevar a desajustes en las relaciones simbióticas entre bacterias y otros organismos.
5. Es necesario comprender la verdadera actividad *in vivo* de las moléculas que se desarrollen, para determinar en qué momento es preciso utilizarlas (es posible que no sean eficaces a no ser que se usen antes de la formación del biofilm), o que la especie tenga factores de virulencia asociados y no asociados a QS y a pesar de la inhibición la bacteria siga siendo patógena.

No obstante, son moléculas muy innovadoras, por lo que es probable que en un espacio breve de tiempo se consigan resultados positivos y consigan llevarse al mercado farmacéutico. Además, aunque los estudios no estén muy avanzados en algunos puntos de esta terapia, hay factores favorables:

- Se conocen moléculas con actividad inhibidora de QS, tanto de síntesis como de origen natural, aunque en muchos casos su capacidad *in vivo* se desconozca. Esto posibilita que en unos años pueda llegar a haber ensayos concluyentes de la actividad real *in vivo* y que permitan el paso de estas moléculas a la terapéutica.
- La posible aparición de resistencias es un problema, pero, teniendo en cuenta el panorama actual respectivo a los antibióticos, la aparición de nuevas terapias es urgente y necesaria. Asimismo, estos inhibidores se diseñarán para no eliminar la vida de las bacterias, por lo que la selección de resistencias siempre será más lenta y menos grave que en el campo de los antimicrobianos.
- Se pueden utilizar en otros campos y permitirían la reducción del uso de antibióticos a nivel agropecuario o biomédico, lo que también sería favorecedor para la disminución de la selección de resistencias, y, además, se podría favorecer el uso de agonistas de QS para que la población de bacterias que aportan beneficios evite la propagación de bacterias patógenas, entre otras posibles aplicaciones innovadoras.

En conclusión, aún queda mucho por hacer hasta que estas moléculas lleguen al mercado, pero son una estrategia terapéutica muy prometedora y que aportará grandes ventajas al panorama antimicrobiano actual.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Starkey M., Lepine F., Maura D. Identification of anti-virulence compounds that disrupt quorum-sensing regulated acute and persistent pathogenity. PLOS Pathogens. 2014; 10 (8). Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004321>
2. Romero M., Acuña L., Otero A. Patents on quorum quenching: interfering with bacterial communication as a strategy to fight infection. Recent Patents on Biotechnology. 2012; 6:2-12. Disponible en: <https://doi.org/10.2174/187220812799789208>
3. Whitehead A., Barnard A., Slater H., Simpson N. Quorum sensing in Gram-negative bacteria. FEMS Microbiology Reviews. 2001; 25 (4); 365-404. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2001.tb00583.x>
4. Fetzner S. Quorum quenching enzymes. Journal of Biotechnology. 2015; 201: 2-14. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.09.001>
5. Lasa I., Pozo J. L. del, Penadés J. R., Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. Anales Sistema Sanitario Navarra. 2005; 28(2):163-175. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1137-66272005000300002
6. Defoirdt T., Brackman G. Coenye T. Quorum sensing inhibitors: how strong is the evidence? Trends in Microbiology. 2013;21 (12) :619-624. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.09.006>
7. Marquina Díaz D., Santos de la Sen A. Procesos biológicos regulados por quorum sensing. Reduca Serie Microbiología. 2010; 3:56-74. Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/821/836>
8. Mattingly Q. New report calls for urgent action to avert antimicrobial crisis. Nueva York 29/04/2019. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/detail/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>
9. Taconelli E., Magrini N. Global priority list of antibiotic resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics. World Health Organization. Disponible en: https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1
10. LaSarre B., Federle M. Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2013; 77: 73-111. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00046-12>
11. Rémy B., Mion S., Plener L. Interference in bacterial quorum sensing: a biopharmaceutical perspective. Frontiers in Pharmacology. 2018; 9(203). Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.09.00203>
12. Subhadra B., Dong H., Kyungho W. Control of biofilm formation in healthcare recent advances exploiting quorum sensing interference strategies and multidrug efflux pump inhibitors. Materials. 2018; 11 (1676): 1-20. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ma11091676>
13. García-Contreras R. Wood T., Tomás M. Quorum Network (Sensing/quenching) in multidrug-resistant pathogens. Frontiers in pharmacology. 2019; 9:80. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00080>

14. Castillo-Juarez I., Maeda T., Mandujano-Tinoco EA., Tomás M, García-Contreras SJ., García-Contreras R. Role of quorum sensing in bacterial infections. *World Journal of Clinical Cases*. 2015; 3(7): 575-598. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.12998/wjcc.v3.i7.575>
15. Pei R., Lamas-Samanamud GR. Inhibition of biofilm formation by T7 bacteriophages producing quorum quenching enzymes. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014; 80 (17): 5340-5348. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AEM.01434-14>
16. Tang K., Zhang X. Quorum quenching agents: resources for antivirulence therapy. *Marine Drugs*. 2014; 12 (6): 32445-3282. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/md12063245>
17. Muras A., López-Pérez M., Mayer C., Parga A., Armario-Blanco J. High prevalence of quorum-sensing and quorum-quenching activity among cultivable bacteria and metagenomic sequences in the Mediterranean sea. *Genes*. 2018; 9 (2): 100. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/genes9020100>
18. Cruz-Muñiz M., López-Jacome L., Hernandez Durán M., Franco-Cendejas R. Repurposing the anticancer drug mitomycin for the treatment of persistent *Acinetobacter baumannii* infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2017; 49 (1): 88-92. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.10.001>
19. Lopes E., Moreira D., Gullón P., Gullón B., Cardelle-Cobas A. Topical application of probiotics in skin: adhesión, antimicrobial and antibiofilms in vitro assays. *Journal of Applied Microbiology*. 2017; 122 (2): 450-461. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jam.13349>
20. Klymaci ME., Altanlar N., GumustasM., Ozkan SA., Akin A. Quorum sensing signals related virulence inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by a potential probiotic strain's organic acid. *Microbia Pathogenesis*. 2018; 121: 190-197. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.042>
21. García- Contreras R., Maeda T., Wood T. Can resistance against quorum sensing interference be selected? *The International Society for Microbial Ecology Journal*. 2016; 10: 4-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.84>
22. Bzdrenga J., Daudé D., Rémy B., Jacquet P. Biotechnological applications of quorum quenching enzymes. *Chemico-Biological Interactions*. 2017; 267 (1): 104-115. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.05.028>
23. Bhardwaj A, Vinothkumar K., Rajpara N. Bacterial quorum sensing inhibitors: attractive alternatives for control of infectious pathogens showing multiple drug resistance. *Recent Patents on Anti-infective Drug Discovery*. 2013; 8:68-83. Disponible en: <https://doi.org/10.2174/157489113805290809>
24. O'Neill J. Review on Antimicrobial Resistance. *Infographics*. 2015. Disponible en: https://amr-review.org/sites/default/files/World_Map.jpg
25. Eijsink V, Axelsson L, Diep D. Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria; an example of biological warfare and communication. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2002; 81:639. Disponible en: <https://doi.org/10.1023/A:1020582211262>