

**Memòria del Treball de Fi de Grau**

**COMUNICACIÓ QUORUM SENSING EN PROCARIOTES:  
REPTES I OPORTUNITATS**

Autor: Francesc de Borja Camps Pons

Correu electrònic: francesc7cpv@gmail.com

Grau en Biologia

Tutor: Dr. Frederic Gich Batlle

Correu electrònic: frederic.gich@udg.edu

Data de dipòsit de la memòria a través de la plataforma de TFG: 06/06/2023

# ÍNDEX

I.	RESUM	3
II.	RESUMEN	4
III.	ABSTRACT	5
IV.	REFLEXIÓ SOBRE ÈTICA	6
V.	REFLEXIÓ SOBRE SOSTENIBILITAT	6
VI.	REFLEXIÓ SOBRE PERSPECTIVA DE GÈNERE	7
1.	INTRODUCCIÓ	8
1.1.	Contextualització del Quorum Sensing	8
1.2.	Importància del Quorum Sensing en els microorganismes	9
1.3.	Mecanismes moleculars del Quorum Sensing en procariotes	10
1.3.1.	Bacteris Gram-negatius	12
1.3.2.	Bacteris Gram-positius	13
1.3.3.	Bacteris multilingües (QS híbrid)	13
1.3.4.	Arqueus	14
1.4.	Extinció del Quorum Sensing	15
2.	OBJECTIVES	16
3.	METODOLOGIA	16
4.	RESULTATS I DISCUSSIÓ	18
4.1.	Inhibició del Quorum Sensing	18
4.1.1.	Estratègies i inhibidors del Quorum Sensing	18

4.1.2.	Aplicacions en la inhibició del Quorum Sensing	21
-	Teràpia antiinfecciosa, com a alternativa als antibiòtics	21
-	Regulació de la corrosió bacteriana	23
4.2.	Estimulació del Quorum Sensing	25
4.2.1.	Estratègies i estimuladors del Quorum Sensing	25
4.2.2.	Aplicacions en l'estimulació del Quorum Sensing	26
-	Bioremediació i biodegradació de contaminants	27
-	Agricultura	28
-	Producció de composts bioactius	29
4.3.	Reptes i limitacions en l'estudi del Quorum Sensing	30
5.	CONCLUSIONS	32
6.	BIBLIOGRAFIA	33

## I. RESUM

El Quorum Sensing, una eina de comunicació cel·lular utilitzada pels organismes procariotes, tant bacteris com arqueus, els permet coordinar el seu comportament en funció de la densitat cel·lular i adaptar-se a les diverses situacions ambientals en què es troben, mitjançant molècules de senyals químiques, els autoinductors.

En aquesta revisió sistemàtica es discuteix la importància i participació del Quorum Sensing en diversos processos propis dels microorganismes, com en el comportament social i coordinació cel·lular, en la producció d'enzims i metabòlits i en l'expressió de determinats gens. A més, s'estudien els principals tipus de comunicació Quorum Sensing en bacteris, siguin Gram-positius o Gram-negatius; i les principals diferències que hi ha entre els respectius sistemes.

Analitzant les oportunitats que implica la interferència i modificació d'aquest sistema, s'ha demostrat que hi ha diverses estratègies i molècules o composts que poden inhibir o estimular els sistemes de comunicació Quorum Sensing en diferents microorganismes. El potencial d'aquesta possibilitat ha estat estudiat, amb l'objectiu d'obtenir un cert benefici i millora en alguns àmbits, com en la teràpia antiinfecciosa com a alternativa als antibiòtics, la regulació de la corrosió bacteriana, la bioremediació i biodegradació de contaminants, l'agricultura i la producció de composts bioactius; per tal d'aplicar-ho en diversos camps científics com l'ecologia microbiana, la microbiologia clínica i agrícola, la biotecnologia i la biomedicina.

Però, les estratègies plantejades per a interferir el procés de comunicació Quorum Sensing, presenten bastantes limitacions, com la resistència a alguns dels compostos utilitzats i la baixa estabilitat que presenten en l'entorn natural, la falta d'universalitat d'aquests, el possible impacte ambiental i social que poden ocasionar, entre d'altres.

Per tant, cal continuar investigant i profunditzant els coneixements respecte a la comunicació Quorum Sensing en procariotes, per tal de sobrepassar els reptes i limitacions que presenta i aprofitar les oportunitats que aquest sistema ofereix.

## II. RESUMEN

El Quorum Sensing, una de las herramientas de comunicación celular utilizadas por los organismos procariotas, tanto bacterias como arqueas, les permite coordinar su comportamiento en función de la densidad celular y adaptarse a las diversas situaciones ambientales en las que se encuentran, mediante moléculas de señales químicas, los autoinductores.

En esta revisión sistemática se discute la importancia y participación del Quorum Sensing en distintos procesos propios de los microorganismos como en el comportamiento social y coordinación celular, en la producción de enzimas y metabolitos y en la expresión de determinados genes. Además, se estudian los principales tipos de comunicación Quorum Sensing en bacterias, ya sean Gram-positivas o Gram-negativas; y las principales diferencias existentes entre los respectivos sistemas.

Analizando las oportunidades que implica la interferencia y modificación de este sistema, se ha demostrado que existen diversas estrategias y moléculas o compuestos que pueden inhibir o estimular los sistemas de comunicación Quorum Sensing en diferentes microorganismos. El potencial de esta posibilidad ha sido estudiado, con el objetivo de obtener un cierto beneficio y mejora en algunos ámbitos, como en la terapia antiinfecciosa como alternativa a los antibióticos, la regulación de la corrosión bacteriana, la biorremediación y biodegradación de contaminantes, la agricultura y la producción de compuestos bioactivos; con el fin de aplicarlo en diversos campos científicos como la ecología microbiana, la microbiología clínica y agrícola, la biotecnología y la biomedicina.

Sin embargo, las estrategias planteadas para interferir el proceso de comunicación Quorum Sensing, presentan bastantes limitaciones, como la resistencia a algunos de los compuestos utilizados y la baja estabilidad que presentan en el entorno natural, la falta de universalidad de éstos, el posible impacto ambiental y social que pueden ocasionar, entre otros.

Por tanto, es necesario continuar investigando y profundizando los conocimientos respecto a la comunicación Quorum Sensing en procariotas, para sobrepasar los retos y limitaciones que presenta y aprovechar las oportunidades que este sistema ofrece.

### **III. ABSTRACT**

Quorum Sensing, one of the cellular communication tools used by prokaryotic organisms, both bacteria and archaea, allows them to coordinate their behavior based on cell density and adapt to the various environmental situations in which they find, through chemical signal molecules, the autoinducers.

This systematic review discusses the importance and participation of Quorum Sensing in several processes specific to microorganisms such as social behavior and cellular coordination, the production of enzymes and metabolites and the expression of certain genes. In addition, the main types of Quorum Sensing communication and the main differences between the respective systems are studied in bacteria, whether Gram-positive or Gram-negative.

Analyzing the opportunities involved in the interference and modification of this system, it has been shown that there are several strategies and molecules or compounds that can inhibit or stimulate Quorum Sensing communication systems in different microorganisms. The potential of this possibility has been studied, with the aim of obtaining a certain benefit and improvement in some areas, such as in anti-infective therapy as an alternative to antibiotics, the regulation of bacterial corrosion, the bioremediation and biodegradation of pollutants, agriculture and the production of bioactive compounds; in order to apply it in various scientific fields such as microbial ecology, clinical and agricultural microbiology, biotechnology and biomedicine.

However, the strategies proposed to interfere with the Quorum Sensing communication process have many limitations, such as the resistance to some of the compounds used and the low stability that they present in the natural environment, their lack of universality, the possible environmental impact and social effects that they can cause, among others.

Therefore, it is necessary to continue investigating and deepening the knowledge regarding Quorum Sensing communication in prokaryotes, in order to overcome the challenges and limitations it presents and take advantage of the opportunities that this system offers.

## **IV. REFLEXIONS SOBRE ÈTICA**

La investigació en la comunicació Quorum Sensing i, la modificació i interferència d'aquest procés, proporciona i ofereix moltes oportunitats en diversos àmbits.

Però, com en qualsevol altra àrea de la investigació, és important seguir la legislació, regulacions, protocols de seguretat adequats i, considerar els possibles aspectes i conseqüències ètiques, associades a l'experimentació amb microorganismes, alguns dels quals poden ser perjudicials per a la resta d'organismes i per a l'ecosistema; i a la utilització de composts o molècules per tal d'inhibir o estimular el Quorum Sensing, ja que el seu ús indiscriminat podria acabar generant resistència bacteriana, el que representa un risc per a la salut pública. Per tant, en la investigació és clau no dur a terme una acció si es sap que pot ocasionar efectes negatius i possibles danys en el futur.

Per altra banda, durant la realització del treball científic, en el procés de recerca bibliogràfica, l'ètica també és clau i implica la selecció de fonts fiables, la correcta citació d'informació, evitar la manipulació de les dades i imatges i, evitar l'ús no autoritzat d'informació o idees d'altres autors, sense donar-los el corresponent crèdit, és a dir, el plagi.

Considero que l'ètica juga un paper fonamental en la investigació i en qualsevol altra disciplina científica. És per aquesta raó, que s'ha de promoure la consciència i la responsabilitat pròpia i social, per tal de seguir els estàndards ètics i morals, garantint la qualitat i integritat de la investigació científica.

## **V. REFLEXIÓ SOBRE SOSTENIBILITAT**

L'estudi del Quorum Sensing en procariotes planteja alternatives sostenibles per al control de patògens, remediació de contaminants, producció de composts bioactius derivats dels microorganismes, etc.

Tot i això, és necessari realitzar estudis que avaluin el possible impacte ambiental i sanitari, abans d'utilitzar i aplicar les tècniques que modifiquen la senyalització Quorum Sensing en les diverses indústries com l'agrícola i la farmacèutica, per tal d'evitar que l'ús d'aquesta estratègia tingui efectes negatius per a l'ecosistema i la resta d'organismes i es garanteixi un desenvolupament sostenible i segur per a la societat i el medi ambient.

A més cal remarcar, que com el present treball no és experimental, sinó una revisió bibliogràfica, no s'ha manipulat cap organisme, ni cap producte derivat dels éssers vius. També, no s'ha fet servir cap mena de material fungible, ja que per dur a terme el present treball únicament s'ha utilitzat informació present en diversos articles de revista electròniques. Per tant, al no necessitar imprimir els articles en paper, no s'han generat residus, suprimint l'impacte ambiental d'aquest estudi.

## VI. REFLEXIÓ SOBRE PERSPECTIVA DE GÈNERE

Històricament, les dones han estat menyspreades i subrepresentades en molts àmbits i camps, així també com en ciència. Aquest fet ha donat lloc a una falta d'enfocament en la perspectiva de gènere en la investigació científica.

En un estudi realitzat per Thelwall (2017), es va determinar en els Estats Units, que en el camp de la microbiologia hi ha 0,54 articles científics escrits per dones per cada article escrit per un home, és a dir gairebé la meitat. A més, mitjançant una anàlisi bibliomètrica, es van avaluar els autors dels articles de revista entre 1996 i 2018 en els Estats Units. Els resultats van determinar que tot i que amb el pas del temps la participació de les dones en els projectes d'investigació i redacció dels respectius, ha incrementat una mica; el 2018 únicament un 38% dels articles van ser escrits per dones. Un percentatge considerablement baix i desproporcionat, respecte als homes.

A més a més, després de dur a terme una recerca d'informació bibliogràfica per al treball de fi de grau, considerant els diferents aspectes de gènere, s'ha vist que en l'àrea temàtica del treball, la microbiologia i el Quorum Sensing en procariotes, en un 76,5% dels articles en què hi ha dones com a participants, el "corresponding author" són homes.

Considero que les dones i els homes estan igualment capacitats com per a exercir les diverses tasques i funcions relacionades amb el camp de la ciència, siguin de menor o major importància i rellevància, i haurien de tenir les mateixes oportunitats que els homes investigadors. És per això, que tot i que avui en dia s'està lluitant per intentar reduir aquesta distància i biaix entre gèneres, s'ha de continuar treballant en aquest aspecte, per tal d'assolir la corresponent igualtat, paritat i inclusió en la ciència i per extensió en tots els nivells professionals d'altres àmbits, seguint la normativa de l'Article 1 de la Llei Orgànica 3/2007, del 22 de març.



# 1. INTRODUCCIÓ

## 1.1. Contextualització del Quorum Sensing

Els procariotes són els éssers vius més simples per la limitada informació continguda en el seu DNA. Tot i això, en la dècada de 1970 es va descobrir que els bacteris poden cooperar i relacionar-se entre ells. Aquest fet té lloc gràcies a la comunicació cel·lular, que pot ser regulada per petites molècules de senyalització que difonen en els espais intercel·lulars (Nealson et al., 1970). La primera evidència de comunicació cel·lular en els bacteris es va establir en la competència genètica en *Streptococcus pneumoniae* (Tomasz, 1965) i en la bioluminescència de diversos microorganismes, com *Beneckea [Vibrio] harveyi*, *Beneckea splendida*, *Photobacterium [Vibrio] fischeri*, *Photobacterium phosphoreum* i *Photobacterium leiognathi* (Nealson i Hastings, 1979). Posteriorment, es va observar que alguns microorganismes com *Vibrio fischeri* poden establir relacions de cooperació simbiòtica amb organismes d'ordre superior, com el calamar hawaià lluminós (*Euprymna scolopes*) (Ruby, 1996).

Aquesta associació i relació de mutualisme (simbiosi) altament específica entre aquest animal i bacteri, comença quan un calamar juvenil acabat de néixer emergeix a l'aigua del mar, on hi ha cèl·lules planctòniques de *V. fischeri*. Aquestes cèl·lules s'agreguen a la superfície de l'òrgan de llum del calamar juvenil i indueixen l'activitat de l'hoste, alliberant un quimioatràient que provoca que els bacteris colonitzadors creixin fins a convertir-se en una gran població. El sistema de comunicació cel·lular en *Vibrio fischeri* consta de cinc gens funcionals de luciferasa i dos gens reguladors que regulen la detecció de quòrum. Quan hi ha una alta concentració de la molècula senyal, s'expressen els gens que codifiquen per la luciferasa. Aquest enzim és l'encarregat de dur a terme l'oxidació de la luciferina a oxiluciferina. Finalment, quan l'oxiluciferina perd el seu estat excitat, s'indueix la bioluminescència dels bacteris i el calamar la modula per camuflar-se de la llum de la Lluna que incideix en la seva superfície, eliminant així la seva ombra. Per tant, els calamars utilitzen aquesta estratègia per evitar ser depredats durant la seva activitat nocturna, és a dir, com un mecanisme de camuflatge. A canvi, els bacteris reben un nínxol ric en nutrients sense competència. La persistència de la població de simbiotes a l'òrgan de llum és mantinguda per un ritme diari dinàmic impost per l'hoste. Així doncs, posteriorment durant les hores de llum, el calamar expulsa a pràcticament totes les cèl·lules bacterianes simbiotes, fins que en caure la nit, els bacteris restants en el calamar es multipliquen ràpidament, generant una nova població, assolint un altre cop la seva alta densitat típica. Aquest cicle es va repetint al llarg de la vida de l'hoste, assegurant així la presència d'una població simbiòtica activa i nova cada nit. Cal destacar, que els bacteris alliberats al mar, cerquen altres nínxols, per colonitzar els òrgans de llum d'altres cries de *E. scolopes* (Engebrecht i Silverman, 1984) (Visick i McFall-Ngai, 2000).

Però no va ser fins uns anys més tard, després d'entendre el mecanisme regulador de la bioluminescència del bacteri *Vibrio fischeri* i les molècules implicades, quan es va establir que aquest sistema havia de ser denominat detecció de quòrum o comunicació Quorum Sensing (QS).

Aquest mecanisme es basa en el principi que únicament quan la concentració de les molècules de senyalització (els autoinductors), implicades en la comunicació cèl·lula-cèl·lula i produïdes pels mateixos bacteris, assoleix el llindar crític en el medi extracel·lular, les cèl·lules poden percebre aquest senyal i, activar o reprimir l'expressió de gens diana. Per tant, les molècules autoinductores tenen una funció de regulació de l'expressió gènica en cèl·lules d'altres organismes de la mateixa població i, al mateix temps, realitzen el control d'un conjunt de respostes per part dels bacteris (Nealson i Hastings, 2006).

## **1.2. Importància del Quorum Sensing en els microorganismes**

A diferència dels organismes eucariotes (principalment pluricel·lulars), la gran majoria dels procariotes són unicel·lulars, és a dir, estan constituïts per una única cèl·lula, en comparació amb els organismes pluricel·lulars que presenten diverses cèl·lules.

És per això, que aquest mecanisme de comunicació intercel·lular que es dona entre microorganismes de la mateixa espècie, els permet detectar i respondre a la densitat poblacional i a les condicions ambientals del lloc en què es troben. Per tant, el Quorum Sensing els permet "parlar" entre ells, per tal de coordinar les seves accions com a una comunitat funcional. En alguns casos, aquesta comunicació també pot implicar interaccions entre diferents espècies de procariotes. Així doncs, alguns bacteris poden detectar senyals d'altres espècies i respondre a aquests, conduint a interaccions cooperatives o competitives entre poblacions (Greenberg, 2003).

Aquesta àmplia capacitat de cooperació entre procariotes els permet regular una gran varietat de processos fisiològics i metabòlics, com la formació d'estructures organitzades molt semblants a un teixit multicel·lular (biofilms), l'expressió gènica, la producció d'enzims, la virulència, la competència, la bioluminescència, la producció d'antibiòtics, la transferència d'ADN de conjugació i la producció de biosurfactant, entre d'altres. Així també, com els permet adaptar-se i sobreviure a ambients canviants i que poden ser hostils, com és el cas dels cossos dels hostes (Miller i Bassler, 2001). Per tant, el Quorum Sensing permet un seguit d'interaccions que confereixen certs avantatges als microorganismes:

- Comportament social i coordinació cel·lular: El Quorum Sensing coordina el comportament social dels microorganismes, permetent la formació d'agregats i la colonització de nous ambients, com és el cas en la formació de biofilms (Greenberg, 2003). Els biofilms són agregats de microorganismes que es fixen a un substrat, adherint-se uns amb altres mitjançant una matriu d'exopolisacàrids i, intercanvien nutrients. Aquest fet proporciona a alguns procariotes la capacitat de formar associacions amb organismes eucariotes com plantes, animals o fongs, establint diverses relacions que poden ser perjudicials, neutrals o beneficioses per a aquests (Kievit i Iglewski, 2000).
- Producció d'enzims i metabòlits: En certs bacteris, el Quorum Sensing coordina la producció de composts antimicrobians i nutrients, com les bacteriocines, permetent el creixement i benefici de la comunitat microbiana en conjunt (Kleerebezem, 2004).
- Control en l'expressió gènica: La majoria dels bacteris patogènics utilitzen el mecanisme de Quorum Sensing per a coordinar l'expressió dels gens de virulència (Miller i Bassler, 2001), que els proporciona la capacitat d'infectar als seus hostes i evadir el sistema immunitari.

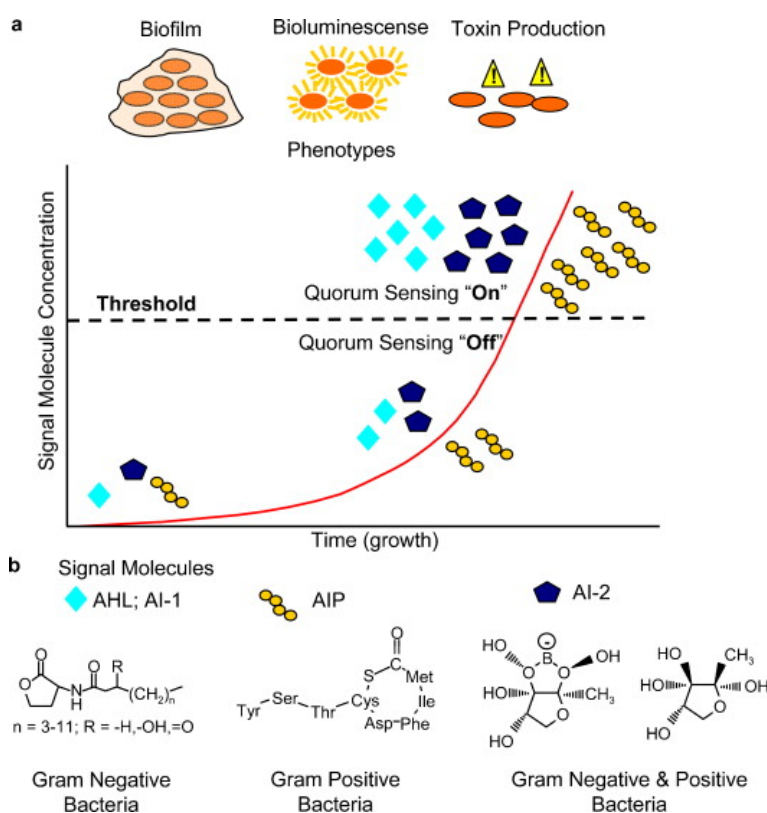
Per tant, el Quorum Sensing és un mecanisme fonamental per a garantir la supervivència, èxit i autonomia de molts microorganismes en el seu ambient natural, ja que els permet tenir un comportament col·lectiu, optimitzant les seves possibilitats enfront de variacions del seu entorn.

### 1.3. Mecanismes moleculars del Quorum Sensing en procariotes

El mecanisme molecular del Quorum Sensing en bacteris es basa en la producció, detecció i resposta als senyals extracel·lulars, els autoinductors, els quals constitueixen un pont de connexió entre el bacteri emissor del senyal i el bacteri receptor. Generalment, els bacteris van produint molècules autoinductores senyalitzadores difusibles contínuament a una concentració baixa i aquestes es van acumulant al medi extracel·lular a mesura que la densitat de la seva població augmenta. Fins que arriba un punt en què la concentració d'aquestes molècules arriba a un llindar i són reconegudes per una proteïna receptora present en els bacteris, induint un canvi coordinat en l'expressió gènica de tota la població i donant lloc als fenotips de Quorum Sensing, com la formació de biofilms, la bioluminescència i la producció de toxines entre altres (**Figura 1.a**) (Kievit i Iglewski, 2000).

Per tal que el mecanisme de comunicació entre diverses espècies bacterianes pugui ser considerat com detecció de quòrum, l'autoinductor ha de: produir-se específicament en resposta a unes determinades condicions, acumular-se en el medi extracel·lular, poder ser reconegut per algun receptor específic, generalment situat a la membrana cel·lular, produir una resposta quan la concentració d'aquest arriba a un cert llindar i degradar-se un cop finalitza el canvi fisiològic (Winzer et al., 2002).

Existeixen diversos tipus d'autoinductors i senyals Quorum Sensing (**Figura 1.b**). La majoria dels processos de comunicació entre bacteris Gram-negatius implica la producció i detecció de senyals N-acil-homoserines-lactones ("acyl homoserine lactones", AHL), és a dir autoinductors AI-1; mentre que en bacteris Gram-positius els senyals són oligopèptids curts modificats, és a dir, cadenes de diversos aminoàcids variables ("autoinducing peptides", AIP) (Miller i Bassler, 2001). Alhora, diverses espècies, tant de Gram-positius com de Gram-negatius, poden generar la mateixa molècula de senyalització (AI-2), conegut per ser l'autoinductor que garanteix un llenguatge universal entre espècies (Winzer et al., 2002). Així doncs, els principals mecanismes moleculars de comunicació entre bacteris Gram-positius i Gram-negatius poden diferenciar-se en funció de l'autoinductor utilitzat per a aquest procés.



**Figura 1.** Representació gràfica del sistema d'activació de la detecció de quòrum (**a**) i els diferents tipus de molècules senyal o autoinductors dels diversos bacteris (**b**). Imatge extreta de Roy et al. (2011).

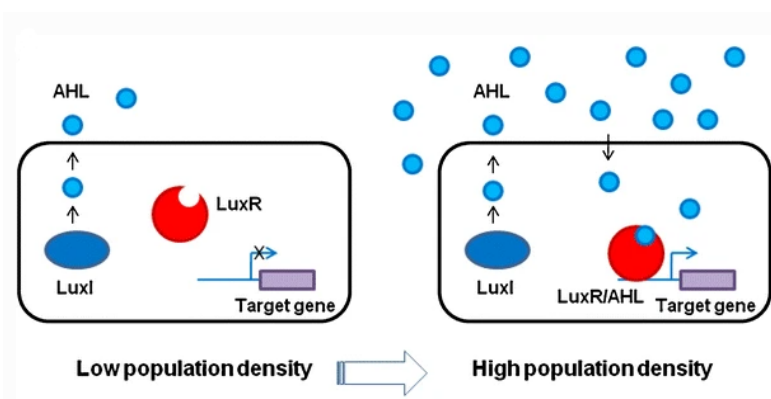
### 1.3.1. Bacteris Gram-negatius

El bacteri Gram-negatiu *Vibrio fischeri*, utilitza com a via de comunicació un sistema LuxI/LuxR (Figura 2). Però s'han trobat sistemes homòlegs en altres bacteris Gram-negatius, que poden ser diferenciats en funció de l'estructura de la molècula senyal (l'estructura d'AHL varia entre espècies bacterianes, en el nombre de carbonis i el grup de la cadena lateral R) i les proteïnes reguladores (Taula 1) (Kievit i Iglewski, 2000).

**Taula 1.** Exemples dels sistemes de detecció de quòrum en bacteris Gram-negatius.

Organisme	Molècula senyal principal (autoinductor)	Proteïnes reguladores
<i>Vibrio harveyi</i>	3-Hidroxi-C <sub>4</sub> -HSL	LuxLM/LuxN
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3-Oxo-C <sub>12</sub> -HSL // C <sub>4</sub> -HSL	LasI/LasR // RhII/RhIR
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	C <sub>6</sub> -HSL	PhzI/PhzR
<i>Erwinia carotovora</i>	3-Oxo-C <sub>6</sub> -HSL	ExpI/ExpR
<i>Chromobacterium violaceum</i>	C <sub>6</sub> -HSL	CviI/CviR
<i>Serratia liquifaciens</i>	C <sub>4</sub> -HSL	SwrI/SwrR
<i>Yersinia enterocolitica</i>	C <sub>6</sub> -HSL	YenI/YenR
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	C <sub>6</sub> -HSL	SII/SIR

El gen LuxI del *Vibrio fischeri* codifica per l'autoinductor 3-Oxo-C<sub>6</sub>-HSL (AHL). Després del procés d'alliberació de la molècula senyal al medi extracel·lular, consegüent entrada a través de la membrana plasmàtica del bacteri i, reconeixement del receptor citoplasmàtic LuxR, es forma el complex LuxR/AHL (Figura 2). Aquest fet proporciona la modulació de l'expressió de diversos gens, com els de la bioluminescència i, s'indueix una cascada de senyalització que dona lloc a una resposta fisiològica d'una comunitat de bacteris veïns (Schauder i Bassler, 2001).



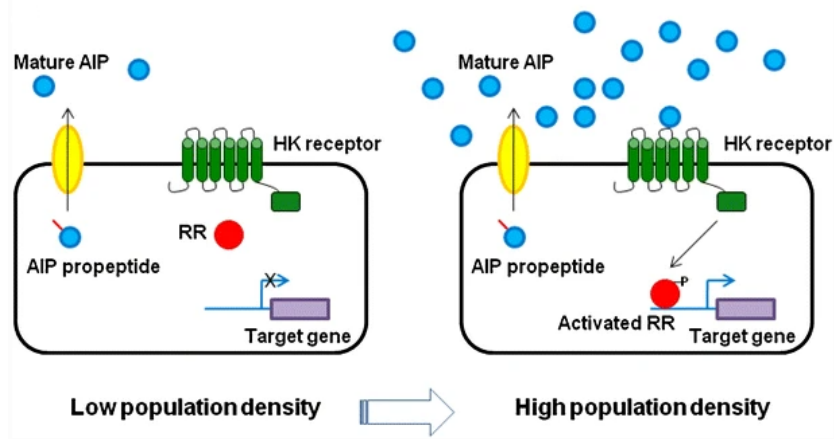
**Figura 2.** Sistema de detecció de quòrum en bacteris Gram-negatius. Imatge extreta de Choudhary i Schmidt-Dannert (2010).

### 1.3.2. Bacteris Gram-positius

Els bacteris Gram-positius utilitzen pèptids (AIP) com a molècula de senyalització. Tenen dues vies d'activació del Quorum Sensing que es diferencien segons el mecanisme de percepció del senyal per part dels bacteris.

La primera via de senyalització (*Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, i altres espècies dels mateixos gèneres) es caracteritza per ser un sistema de dos components (**Figura 3**). Quan la concentració d'AIP, modificats després de la seva traducció, assoleix un determinat llindar en el medi extracel·lular, aquest interactua amb la proteïna histidina quinasa transmembrana (HK) i s'autofosforil·la, fosforilant també al regulador transcripcional citoplasmàtic específic (RR). Aquesta activació de RR modula la capacitat reguladora per a activar o reprimir la transcripció de certs gens, els quals induiran una cascada de senyalització que dona lloc a la resposta fisiològica en la comunitat de bacteris veïns (Mascher et al., 2006).

En canvi, en una segona via de senyalització (*Lactobacillus sakei*), el pèptid és reimportat al medi intracel·lular mitjançant un sistema de transport de permeasa oligopèptid i interactua directament amb el regulador transcripcional citoplasmàtic, modulant així l'expressió de gens específics (Skaugen et al., 2002).



**Figura 3.** Sistema de detecció de quòrum en bacteris Gram-positius. Imatge extreta de Choudhary i Schmidt-Dannert (2010).

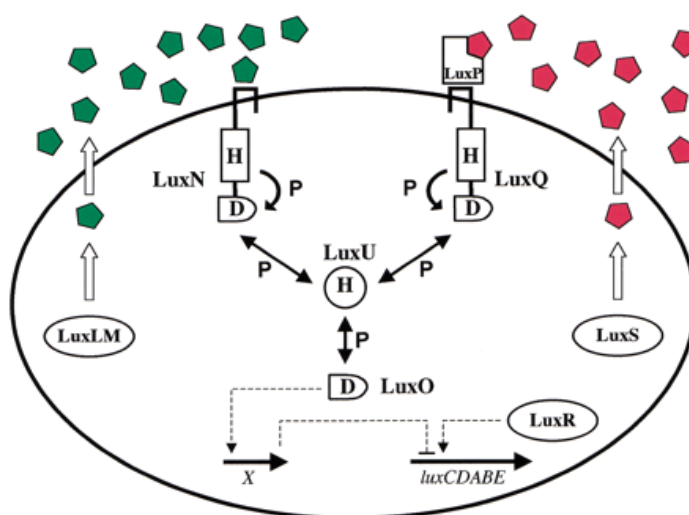
### 1.3.3. Bacteris multilingües (QS híbrid)

La detecció de quòrum de tipus híbrid (**Figura 4**), permet la comunicació entre bacteris Gram-positius i Gram-negatius i, conté elements dels dos mecanismes de Quorum Sensing induïts per autoinductors AHL i AIP.

L'activitat de LuxLM produeix autoinductors AHL o AI-1 (pentàgons verds a la **Figura 4**). Mentre que un altre autoinductor, AI-2 (pentàgons vermells en la **Figura 4**), és sintetitzat per l'enzim LuxS. La molècula de senyalització AI-2 és un dièster de furanil de borat (Chen et al., 2002).

Ambdós autoinductors es van acumulant extracel·lularment en funció de la densitat de cèl·lules bacterianes.

AI-1 és reconegut en altes concentracions pel seu sensor LuxN, que interactua amb la proteïna histidina quinasa LuxU. En canvi, AI-2 en alta concentració és detectat per la proteïna de membrana LuxP, que interactua amb la proteïna histidina quinasa LuxQ. Aquest complex activa la fosfotransferasa LuxU, que alhora fosforila el regulador transcripcional LuxO, el qual controla la transcripció de la proteïna repressora X. Es requereix la proteïna activadora LuxR perquè es pugui expressar l'operó estructural de la luciferasa (LuxCDABE) i s'indueixi la bioluminescència en *Vibrio harveyi* (Schauder i Bassler, 2001).



**Figura 4.** Sistema de detecció de quòrum híbrid en *Vibrio harveyi*. Imatge extreta de Schauder i Bassler (2001).

### 1.3.4. Arqueus

Malgrat que la majoria d'estudis sobre el Quorum Sensing es centren en els bacteris, s'ha demostrat que els arqueus, un domini de microorganismes procariotes unicel·lulars que poden viure en ambients extrems, com aigües termals, salines i sediments anòxics, gràcies a les seves característiques bioquímiques, fisiològiques i genètiques úniques; també utilitzen el sistema Quorum Sensing per a coordinar el seu comportament, mitjançant senyals que igual que en el cas dels bacteris, difonen a l'ambient i són detectats per altres cèl·lules de la població.

Aquest mecanisme implica la producció de molècules senyalitzadores algunes molt similars a les dels bacteris, com les N-acil homoserina lactones (AHL) carboxilades en *Methanosaeta harundinacea*. Per altra banda, en alguns arqueus, com *Natrialba occultus* i *Natrialba magadii*, com que viuen en entorns extremadament alcalòfils, s'han vist obligats a modificar les seves molècules de detecció de quòrum (augmentant la longitud de la seva cadena), perquè puguin funcionar en aquests ambients tan extrems. Cal destacar, que els AHL de cadena curta són inestables a condicions alcalines (Montgomery et al., 2013).

## 1.4. Extinció del Quorum Sensing

Per primer cop, Dong et al. (2000) van descriure que el gen *aiiA* del bacteri Gram-positiu *Bacillus sp.* 240B1, codifica per un enzim lactonasa amb la capacitat d'inactivar tres autoinductors AHL i, inhibir la virulència d'*Erwinia carotovora*, quan aquest s'expressa en el patògen. Posteriorment, es va determinar que en certes situacions, dues espècies bacterianes en competència poden interferir i interrompre o inhibir els circuits de comunicació cèl·lula-cèl·lula, és a dir, el procés de senyalització Quorum Sensing, comprometent el benestar comú d'ambdues espècies.

Aquest fet és conegut com a extinció de quòrum ("Quorum Quenching") i inclou diversos mecanismes antagònics de Quorum Sensing. Aquest fenomen pot tenir lloc tant en bacteris Gram-positius com Gram-negatius i es produeix per l'atenuació del procés Quorum Sensing. El mecanisme d'extinció de quòrum actua bloquejant la generació de molècules específiques o alterant la seva estructura, interrompent així el flux d'intercanvi de les molècules de senyalització (Zhang, 2003).

Aquest fenomen de Quorum Quenching és de gran interès en molts sectors, com la medicina, l'agricultura o la biotecnologia, com a possible estratègia d'aplicació per a lluitar contra diversos patògens, els quals la seva virulència i formació de biofilms està regulada per un sistema de comunicació Quorum Sensing.

Un cop es va conèixer i entendre el mecanisme, mitjançant el qual els microorganismes poden comunicar-se entre si, el Quorum Sensing i, el procés antagònic a aquest, el Quorum Quenching; diversos investigadors han centrat els seus esforços en la realització d'estudis, on el principal objectiu d'aquests ha estat estudiar el potencial de modificar i interferir aquest sistema de comunicació en procariotes. Així doncs, al llarg dels anys s'han anat estudiant les estratègies d'estimulació o inhibició del Quorum Sensing, per tal d'aplicar-ho en diverses àrees de coneixement científic, aportant així una nova perspectiva i un ampli espectre de possibilitats.



## 2. OBJECTIVES

The general and main objective of the present work is to carry out a systematic analysis and review of the different types of Quorum Sensing communication in relevant prokaryotic species and their potential in order to obtain an improvement in several research areas, such as microbiology, medicine and biotechnology.

The specific and secondary objectives are the following:

- Review the possible strategies for inhibition or stimulation of Quorum Sensing communication.
- Analyze the challenges and opportunities of these techniques, as well as their future perspectives.

## 3. METODOLOGIA

Per a l'elaboració d'aquesta revisió sistemàtica bibliogràfica, en primer lloc, es va identificar el tema d'investigació, el Quorum Sensing, i es van formular les preguntes i objectiu principal d'aquest estudi: Què és la comunicació Quorum Sensing en procarïotes? Quina és la seva importància? Com funciona i quines diferències hi ha entre microorganismes? Quin és el seu potencial en diverses àrees?

A continuació, es van determinar les preguntes i objectius secundaris d'aquesta investigació: Quines estratègies existeixen per a inhibir o estimular la comunicació Quorum Sensing? I quines oportunitats i limitacions ofereix la possibilitat de modificar i interferir aquest mecanisme?

Després de tenir els objectius clars, es va establir un esquema i una llista dels diferents aspectes i termes considerats com a interessants a desenvolupar.

Tot seguit, es va definir una estratègia de recerca d'informació bibliogràfica. En primer lloc, es van triar algunes paraules clau, com: "Quorum Sensing", "prokaryotes", "autoinducers", "AHL", "AIP", "biofilm", "bioluminescence", "stimulation", "inhibition", "bacterial infection", "antibiotics", "bacterial corrosion", "bioremediation"..., amb les quals realitzar la recerca d'articles. Aquestes paraules clau es van consultar en diverses bases de dades públiques com PubMed, així també com Scopus i Science Direct. A més, també es van fer servir articles de revistes amb accés gratuït. Per a obtenir informació

de resultats més concrets, es van fer servir operadors booleans, com AND, per així connectar les paraules de cerca i ampliar els articles obtinguts en aquesta. Es van anar especificant alguns microorganismes en concret, com per exemple *Vibrio fischeri*, *Vibrio harveyi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Erwinia carotovora*...

Per a la selecció d'articles es va seguir un criteri establert. Primerament, per a aconseguir informació més general del tema de la investigació es van seleccionar 57 articles, en funció del seu títol, nombre de citacions i autors. Es van recopilar articles amb més de 20 citacions i es va prioritzar si algun dels autors o coautors d'aquests, van ser o són força rellevants i importants en aquest camp, com les investigadores Bonnie Lynn Bassler i Melissa B. Miller, entre d'altres. Després de llegir "l'abstract" dels articles, es van preseleccionar aquells que podien ser útils per a l'elaboració d'aquesta revisió, descartant aquells que no.

En canvi, per a obtenir informació més específica i resultats més detallats, es van seleccionar altres articles, en funció del seu títol i l'any de la seva publicació. En aquest cas, tot i que la majoria d'articles presentaven relativament poques citacions, es van prioritzar els articles publicats més recentment, en els quals la informació estava actualitzada.

Les dades per a redactar aquest treball d'investigació, es van aconseguir de diversos articles, citats a l'apartat de "BIBLIOGRAFIA", els quals després de ser llegits completament es va considerar que podien aportar informació rellevant. Alguns dels articles preseleccionats van ser descartats per no acabar d'ajustar-se al tema i objectius de l'estudi o, per incloure informació molt similar a la d'un altre article. Aquest fet va ajudar a contrastar la informació i verificar la seva fiabilitat i certesa.

Finalment, a partir de la informació i resultats obtinguts es va redactar aquest treball. Tot i això, a mesura que es va anar escrivint aquest treball, en funció de les necessitats i conclusions a les quals es va arribar, es van requerir alguns articles més específics per complementar la informació, els quals van ser seleccionats després de passar tot el procés mencionat i criteris establerts. Com és el cas dels articles que profunditzen la utilitat i funcionalitat de certs composts o molècules, com el de la prodigiosina de Palacio et al. (2019).

## 4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

El Quorum Sensing és un procés important en la comunicació cel·lular entre els microorganismes i exerceix un paper clau en la regulació de l'expressió gènica en procariotes i altres eucariotes unicel·lulars. Per aquesta raó, la inhibició i l'estimulació del Quorum Sensing, s'ha explorat com a possible estratègia amb potencial per a controlar diversos processos, en què els microorganismes estan implicats, mitjançant la regulació de l'expressió dels seus gens.

### 4.1. Inhibició del Quorum Sensing

#### 4.1.1. Estratègies i inhibidors del Quorum Sensing

Tots els sistemes de comunicació Quorum Sensing entre microorganismes comparteixen un mateix patró de senyalització en què l'autoinductor sintetitzat es va acumulant, fins que assoleix un cert llindar de concentració i s'uneix a un regulador transcripcional que activa o reprimeix certs gens.

Per tal d'inhibir o bloquejar el procés de comunicació entre microorganismes s'han plantejat diverses estratègies:

- Inhibir la síntesi de l'autoinductor: La inhibició dels enzims involucrats en la producció de les molècules senyalitzadores per part de les cèl·lules bacterianes, provoca una disminució en la concentració de l'autoinductor a l'ambient i per tant, una reducció en l'activació del Quorum Sensing. En un estudi s'ha demostrat que el compost 3-bromopyrrole, inhibeix la síntesi de l'autoinductor AI-1 en *Vibrio fischeri*, ja que s'inhibeix l'enzim productor d'aquest, LuxI; i això provoca una disminució de bioluminescència en aquest bacteri (Warren et al., 2011).
- Degradar o inactivar l'autoinductor: La degradació de l'autoinductor del Quorum Sensing pot produir-se mitjançant enzims que eliminen les molècules senyal, impeding la seva unió al receptor i, la consegüent activació de l'expressió gènica. A més, certs mètodes químics o físics poden inactivar els autoinductors. Així doncs, l'ús de diversos enzims, com la lactonasa que hidrolitza les molècules d'autoinductor AHL, interfereixen en la comunicació cel·lular, mitjançant la degradació o modificació de les molècules de senyalització. Aquests enzims són produïts per

microorganismes que competeixen amb altres d'espècies diferents per un mateix nínxol ecològic (Dong et al., 2007) (Rutherford i Bassler, 2012).

- Antagonitzar el receptor del senyal: Alguns inhibidors de la percepció del senyal, interfereixen els receptors de les molècules de senyalització, evitant que les cèl·lules bacterianes puguin detectar i respondre als autoinductors. En *Pseudomonas aeruginosa*, l'ús de molècules sintètiques anàlogues a l'autoinductor AHL, inhibeix la formació de biofilms i la virulència del bacteri, ja que la molècula anàloga competeix amb l'autoinductor pel seu receptor, bloquejant la seva acció (Hentzer et al., 2002). També, els inhibidors 4-fenilbutanoil-HSL i N-sulfonil-HSL, antagonitzen el receptor del senyal LuxR, en *Vibrio fischeri* (Kalia, 2013).
- Bloquejar la unió de la proteïna reguladora a l'ADN: Una proteïna es pot unir a certes regions de l'ADN per activar o inhibir la transcripció de gens específics en resposta a la concentració d'autoinductor. Per tant, interferir i impedir aquesta unió evita l'activació dels gens dependents del Quorum Sensing. Per bloquejar aquesta unió es poden utilitzar diverses molècules, com furanones halogenades o sintètiques, que bloquegen la unió de la proteïna LuxR o gen regulador a l'ADN en *Vibrio harveyi* (Kalia, 2013).

Aquestes darreres dècades, gràcies als avanços en la investigació del Quorum Sensing en procariotes, s'han descobert diversos composts i molècules amb activitat inhibidora d'aquest sistema de comunicació en els bacteris, detallats en diferents revisions científiques com Kalia (2013), Chen et al. (2018) i Carradori et al. (2020).

A banda del seu mode d'acció i diana, aquests inhibidors del Quorum Sensing, poden ser classificats en funció de la seva composició i procedència (**Taula 2**), en: composts orgànics sintètics, és a dir, molècules de baix pes molecular dissenyades específicament per a inhibir la comunicació cel·lular en els microorganismes; productes naturals i composts químics produïts per organismes vius, com plantes, fongs i bacteris; pèptids que poden tenir activitat específica contra alguns bacteris; agents antimicrobians, com els antibiòtics; nanopartícules d'origen sintètic; anticossos monoclonals i polipèptids, etc.

**Taula 2.** Exemples d'inhibidors del Quorum Sensing

Composts	Origen	Exemples
Naturals	Procariòtic	L'enzim lactonasa obtingut de diversos bacteris, com <i>Stappia sp.</i> , <i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Halomonas sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , pot degradar el senyal de detecció de quòrum AHL (Kalia, 2013). L'enzim acilasa obtingut de diversos bacteris com, <i>Tenacibaculum discolor</i> , <i>Hyphomonas sp.</i> , <i>Alteromonas sp.</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Ralstonia sp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , pot degradar altres senyals de detecció de quòrum com el 3OC <sub>12</sub> -HSL, C <sub>4</sub> HSL i AHL de cadena llarga (Kalia, 2013).
	Eucariòtic: Algues	A partir de la molècula furanona halogenada, produïda per la macroalga marina australiana, <i>Delisea pulchra</i> , es pot inhibir la producció de toxines, bioluminescència i la formació de biofilms en el <i>Vibrio harveyi</i> ; la bioluminescència en <i>Vibrio fischeri</i> i el sistema de senyalització AI-2 i la formació de biofilms en <i>Escherichia coli</i> (Kalia, 2013). La betonicina i l'àcid isotònic de l'alga vermella coreana, <i>Ahnfeltiopsis flabelliformis</i> , poden interferir l'autoinductor AHL en <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Kalia, 2013).
	Eucariòtic: Fongs	La patulina i l'àcid penicílic de <i>Penicillium sp.</i> , inhibeixen la formació de biofilms en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Kalia, 2013).
	Eucariòtic: Plantes	L'exsudat de carbassa, d' <i>Arabidopsis sp.</i> i de plàntules de tomàquet: $\gamma$ -hidroxibutirat, inhibeix la senyalització AHL en <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Kalia, 2013). L'àcid rosamarínic de l'alfàbrega dolça, <i>Ocimum basilicum</i> , inhibeix la formació de biofilms i factors de virulència en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Kalia, 2013).
	Eucariòtic: Animals	Els enzims paraoxonases de mamífers poden reduir l'activitat dependent de la molècula senyal 3OC <sub>12</sub> -HSL en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Kalia, 2013).
Dissenyats	Sintètic	La molècula N-(indol-3-butanoil)-L-HSL inhibeix la virulència i formació de biofilms en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Kalia, 2013). La molècula N-(heptil-sulfanil acetil)-L-HSL inhibeix el regulador transcripcional LasR i LuxR de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> i <i>Vibrio fischeri</i> , respectivament. La molècula 4-fenilbutanoil-HSL, antagonitza LuxR en el <i>Vibrio fischeri</i> (Kalia, 2013).
Agents antimicrobians	Sintètic	L'antibiòtic, azitromicina, anàleg d'AHL pot inhibir la detecció de quòrum en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01 i la seva producció de factors de virulència (Kalia, 2013).
Pèptids	Sintètic	El pèptid inhibidor d'ARN III (RIP) en <i>Staphylococcus aureus</i> i <i>Staphylococcus epidermidis</i> , inhibeix la patogenicitat i capacitat d'adhesió d'aquests bacteris (Kalia, 2013).
Substàncies químiques	Orgànic	Alguns derivats de l'indol, com el 2-(indolin-2-il)-1H-indol (DIV), el di(1H-indol-3-il) metà (DIM) i l'1,1'-biindol (NN) inhibeixen la formació de biofilms bacterians de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Chen et al., 2018). Derivats trobats de 2-aminoimidazol poden inhibir el Quorum Sensing d' <i>Acinetobacter baumannii</i> i <i>Escherichia coli</i> (Chen et al., 2018).
Anticossos monoclonals	Eucariòtic: Animals	L'anticòs monoclonal XYD-11G2 va demostrar ser eficaç per hidrolitzar la molècula senyal 3OC <sub>12</sub> -HSL en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Kalia, 2013).

## 4.1.2. Aplicacions en la inhibició del Quorum Sensing

La inhibició del Quorum Sensing es va plantejar com a possible estratègia alternativa als antibiòtics, per tant, com a nova teràpia antiinfecciosa (tractament antiquòrum sensing), evitant la producció de factors de virulència. I també, com a tècnica viable reguladora del creixement bacterià, per evitar la formació de biofilms i la respectiva degradació de materials, coneguda com a corrosió bacteriana, provocada per la seva presència i activitat.

- **Teràpia antiinfecciosa, com alternativa als antibiòtics**

Els antibiòtics són medicaments que combaten i fan front a les infeccions bacterianes en persones i animals. Actuen causant la mort dels bacteris o inhibint el seu creixement i multiplicació.

Tot i que el desenvolupament de la resistència bacteriana als antibiòtics té lloc de forma natural com a part d'un procés d'adaptació biològica per part dels bacteris; el seu ús indiscriminat, generalitzat, excessiu i inadequat ha afavorit l'aparició i disseminació de soques bacterianes resistents a la gran majoria d'antibiòtics existents, dificultant així el seu tractament amb els fàrmacs antimicrobians. Aquest fet s'ha vist incrementat aquests darrers anys, donant lloc a microorganismes multiresistents ("multidrug-resistant organism", MDRO), com *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterobacteris resistents a carbapenèmics ("carbapenem-resistant enterobacterales", CRE), *Enterococcus sp.*, resistent a la vancomicina ("vancomycin-resistant enterococci", VRE), *Staphylococcus aureus* resistent a la meticilina ("methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*", MRSA), etc (Hernández i Leiva, 2005). Aquest fet ha suposat un motiu de preocupació i amenaça mundial, perquè un nombre creixent d'infeccions com la pneumònia, la tuberculosi, la septicèmia o la gonorrea, són cada vegada més difícils de tractar, a mesura que els antibiòtics van perdent eficàcia. Si no es prenen mesures o es busquen alternatives urgentment, el món està abocat a una era postantibiòtics en què moltes infeccions bacterianes comunes, causades per un d'aquests microorganismes resistents, causaran una major mortalitat.

Aquesta problemàtica ha estat font d'estudi per a diversos investigadors, els quals aquests darrers anys han estudiat la possibilitat, viabilitat i eficàcia d'utilitzar els diversos mètodes d'inhibició del Quorum Sensing, com a nova teràpia antimicrobiana, alternativa als antibiòtics, alterant i interferint en el procés d'expressió gènica, evitant que es completi el procés de comunicació entre microorganismes. Aquesta suposició es basa en el fet que, com s'ha comentat anteriorment, els microorganismes patògens fan servir el Quorum Sensing per a controlar l'expressió de gens que els

permet la formació de biofilms i la producció de factors de virulència, colonitzant i causant malalties als hostes (Kievit i Iglewski, 2000).

Però és realment l'extinció de quòrum mitjançant la reducció o inhibició de l'expressió dels factors de virulència una alternativa eficaç per a combatre les infeccions bacterianes?

Diversos estudis han demostrat que composts dirigits a la supressió de la síntesi de l'autoinductor (AHL), com el L/D-S-adenosilhomocisteïna, la sinefungina, el butiril-SAM i l'antranilat de metil, inhibeixen un dels primers passos del sistema Quorum Sensing *in vitro* de *Pseudomonas aeruginosa*, un patogen oportunista que infecta pacients immunodeprimits, amb cremades greus, càncer, SIDA, intubats i amb afeccions cròniques com la fibrosi quística. Però és important mencionar que el lloc estructural SAM, intermediari en la síntesi d'AHL en el bacteri *Pseudomonas aeruginosa*, al que s'uneixen les molècules anàlogues, és compartit per altres sistemes de l'organisme, fet que pot desencadenar efectes secundaris (LaSarre i Federli, 2013).

A més, l'ús d'enzims capaços de descompondre la molècula senyal, com les lactonases i acilases són un potent inhibidor del sistema Quorum Sensing en *Pseudomonas aeruginosa*. La seva eficàcia ha estat provada tant *in vivo* com *in vitro* en un model de ratolí i d'un nematode, respectivament. Per altra banda, enzims oxidoreductors com BpiB09, mitjançant la inactivació d'AHL a partir de l'oxidació o reducció d'una de les seves cadenes laterals, redueixen significativament la producció de piocianina, motilitat bacteriana i la formació de biofilms. De fet, els bacteris van resultar ser no patogènics en un model de nematode infectat (LaSarre i Federli, 2013) (Park et al., 2007).

També es pot inhibir aquest sistema en *Pseudomonas aeruginosa* mitjançant la interrupció de la interacció entre l'autoinductor i receptor en la cèl·lula bacteriana. Les furanones halogenades i anàlegs químics de la molècula senyal AHL, poden unir-se al respectiu receptor de l'autoinductor, impeding la seva unió i per tant, la senyalització del sistema Quorum Sensing. Però cal remarcar, que molts d'aquests anàlegs, com les pròpies furanones halogenades, són altament reactives i tòxiques per a les cèl·lules humanes, el que limita el seu potencial com a inhibidor del Quorum Sensing (Taga i Bassler, 2003).

Per altra banda, en el microorganisme *Staphylococcus aureus*, s'ha aconseguit inhibir la seva patogenicitat en un model de ratolí, gràcies a la generació d'anticossos monoclonals anti-autoinductors denominats AP4-24H11, generats a partir de l'haptè dissenyat AP4-5 (Scutera et al., 2014).

A més, mitjançant les molècules antagonistes de l'autoinductor, solonamida A i B (obtingudes de fotobacteris marins), que presenten una elevada similitud estructural amb la molècula senyal natural d'una soca altament virulenta de *Staphylococcus aureus*, inhibeixen el receptor ArgC, encarregat de transmetre el senyal des de la membrana plasmàtica fins a la molècula reguladora de la resposta

transcripcional. I altres molècules petites, a concentracions no tòxiques per a les cèl·lules eucariotes, com la savirina i  $\omega$ -hidroxemodina (OHM) poden interrompre la interacció molècula reguladora-ADN durant el procés de Quorum Sensing en *Staphylococcus aureus* (Reuter et al., 2016).

Els diversos inhibidors de Quorum Sensing en diferents bacteris, com els acabats de mencionar, presenten certs avantatges i inconvenients respecte als antibiòtics convencionals. Així doncs, mentre que els antibiòtics actuen sobre el creixement bacterià tant en microorganismes patògens com no patògens, els inhibidors de Quorum Sensing estan dirigits a les vies de virulència i factors específics dels bacteris diana; i no afecten la microbiota del pacient, preservant els membres beneficiosos de la simbiosi. A més, aquests inhibidors, gràcies al seu restringit espectre d'acció són menys susceptibles a causar efectes adversos als pacients. I també redueixen la pressió selectiva i, en conseqüència els fenòmens de resistència (Clatworthy et al., 2007) (Rasko i Sperandio, 2010).

Tot i això, al llarg d'aquests darrers anys s'ha evidenciat la invalidesa d'algunes d'aquestes molècules. Això es deu al fet que depenent de la concentració d'aquests composts, com el de les furanones, en lloc d'inhibir el Quorum Sensing i els factors de virulència, pot activar-los. A més, s'ha comprovat que certes soques de bacteris resistents a múltiples fàrmacs, com *Pseudomonas aeruginosa*, poden acabar adquirint resistència als extintors i inhibidors de quòrum, com la furanona C-30 o el 5-fluorouracil, produint una major quantitat de factors de virulència respecte a les condicions basals (García, 2016).

- **Regulació de la corrosió bacteriana**

La corrosió microbiana, també coneguda com a corrosió bacteriana, biocorrosió o corrosió influenciada microbiològicament ("microbially induced corrosion", MIC) és la corrosió provocada, causada i promoguda per la colonització i els productes de l'activitat metabòlica (enzims i exopolímers) dels microorganismes en els biofilms en la superfície d'infraestructures i equipaments, especialment en àmbits industrials. La majoria dels materials, incloent-hi metalls, polímers, vidre i ceràmica poden ser degradats d'aquesta forma, causant falles en aquests i una reducció considerable de la seva vida útil.

La corrosió del metall és un procés que es produeix de manera espontània, principalment en ambients marins, en el que es transfereixen electrons des del metall de valència zero fins a l'acceptor final. Aquest procés es basa en una reacció d'oxidació-reducció (redox). Tot i que la corrosió dels aliatges metàl·lics és un procés electroquímic, a finals del segle XX, diversos estudis van demostrar que la corrosió d'aquests materials, implica l'activitat i participació de diversos microorganismes,



principalment bacteris, presents en les respectives superfícies formant biofilms, que permeten la creació de les condicions favorables perquè es duguin a terme aquestes reaccions redox, afavorint i accelerant així la corrosió i degradació dels materials, causant danys a gran escala, com esquerdes i perforacions en conduccions metàl·liques (Procópio, 2019).

Aquest fet suposa una preocupació mundial important, ja que causa grans pèrdues econòmiques en molts sectors industrials. Per exemple, als Estats Units els costos causats per la corrosió microbiana arriben fins a uns 2,5 bilions de dòlars anuals, tot i que si es té en compte la pèrdua de productivitat, la reparació i la prevenció dels danys que provoca aquest procés, el cost es pot veure considerablement incrementat (Procópio, 2019).

A més cal destacar, que les estratègies de control de la corrosió utilitzades en l'actualitat, com pot ser el seu control mitjançant recobriments químics, protecció catòdica, molècules inhibidores de la corrosió o control del MIC a partir de l'ús de biocides, tenen diversos desavantatges pel seu alt cost, presenten restriccions ambientals i en certes ocasions, poden arribar a ser ineficients (Zuo, 2007).

És per aquest motiu, que un cop es va saber que la comunicació intercel·lular entre bacteris, és a dir el procés de Quorum Sensing, regula la seva expressió gènica participant en la formació de biofilms, es va proposar l'ús de molècules inhibidores diana d'aquest mecanisme com a opció efectiva, per inhibir la formació de biofilms bacterians, reduint la seva participació en la corrosió de diversos materials.

Diverses investigacions van demostrar que la inhibició del Quorum Sensing pot ser una estratègia prometedora per prevenir la corrosió microbiana, evitant i desaccelerant la degradació de les estructures metàl·liques. Algunes d'aquestes es presenten a continuació:

Els bacteris sulfat reductors ("sulfate reducing bacteria", SRB), com el *Desulfovibrio desulfuricans* i el *Desulfovibrio vulgaris*, són una de les principals causes de la corrosió anaeròbica microbiològica, particularment en ambients salins, afectant sistemes de tuberïes d'acer, tancs d'hidrocarburs i altres components industrials. Però s'ha demostrat en el bacteri *Desulfovibrio vulgaris*, que mitjançant el tractament amb inhibidors del Quorum Sensing, es pot controlar i reduir la biocorrosió (Scarascia et al., 2019). En un estudi amb *Desulfovibrio sp.*, en presència de l'autoinductor AI-2 exogen, el desenvolupament i formació de biofilms es va veure inhibir. Amb el tractament d'aquesta molècula, hi va haver una reducció de bacteris, lípids, polisacàrids i proteïnes en els biofilms del voltant del 82%, 96%, 94% i 52%, respectivament. D'aquesta manera els biofilms es van tornar més petits i prims, amb menys quantitat de bacteris i substàncies polimèriques extracel·lulars ("extracellular polymeric substances", EPS), uns metabòlits que afecten les reaccions catòdiques o anòdiques dels metalls alterant la seva electroquímica (Li et al., 2021).

Cal destacar, que aquests bacteris no són l'únic grup que poden promoure la corrosió, sinó que poden participar-hi un conjunt de diverses espècies com també, l'*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium sp.*, entre molts altres (Medina et al., 2009).

Per exemple, el metabòlit secundari i fitoquímic dietètic de l'espècie *Cuminum cyminum*, el metil eugenol, és eficaç com a compost inhibidor del Quorum Sensing, evitant la formació de biofilms en *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, ja que s'uneix de manera reversible als receptors del senyal Quorum Sensing. S'ha vist que 100 mg/L de metil eugenol, redueixen un 64% la producció d'exopolímers, per part dels biofilms d'aigua en un estany natural durant trenta dies (Packiavathy et al., 2019).

Aquests estudis entre d'altres, van suggerir la inhibició del Quorum Sensing, com a estratègia eficaç i factible per evitar i prevenir la corrosió bacteriana en els diferents àmbits i aplicacions industrials, millorant així la durabilitat dels respectius equips i materials.

## **4.2. Estimulació del Quorum Sensing**

### **4.2.1. Estratègies i estimuladors del Quorum Sensing**

Els estimuladors del Quorum Sensing, són molècules que imiten els senyals o promouen l'activació dels sistemes que els microorganismes utilitzen en el procés de comunicació bacteriana i, que poden tenir un cert efecte beneficiós per la societat, gràcies a l'obtenció de diversos productes.

Per tal d'estimular el Quorum Sensing poden utilitzar-se algunes de les següents estratègies:

- Estimulació a partir de l'addició d'autoinductors exògens: L'ús d'autoinductors exògens que activen el Quorum Sensing permet que en aquells microorganismes que no en produeixen en suficient concentració d'endògens, s'assoleixi el llindar de concentració, estimulants així la comunicació entre cèl·lules. S'ha vist que en afegir l'autoinductor AI-2 exogen en un model de ratolí amb enterocolitis necrotitzant, una malaltia intestinal que es basa en el desequilibri de la flora intestinal (disbiosi) i una inflamació excessiva en el teixit de la paret intestinal, augmenta la concentració d'AI-2 en l'intestí del ratolí. Aquest fet afavoreix la regulació de l'homeòstasi intestinal gràcies al sistema Quorum Sensing, revertint parcialment el trastorn de la microbiota i la respectiva resposta inflamatòria (Ji et al., 2021).

- Estimulació a partir de nutrients específics: L'addició de nutrients específics pot induir el creixement i formació de biofilms, produint composts d'interès comercial. Per exemple, en una investigació es va demostrar que a una concentració de glucosa al 2%, la producció de l'autoinductor AI-2 en *Serratia marcescens*, va ser màxima augmentant un 3,5% la seva activitat en comparació amb el cultiu control (cultiu en què no es va afegir cap carbohidrat). Això es deu al fet que la glucosa proporciona substrat i energia en la síntesi i producció de l'autoinductor AI-2. El sistema de comunicació Quorum Sensing en aquest microorganisme participa en la regulació del seu metabolisme, però també, en la producció d'un metabòlit secundari, la prodigiosina, un compost de gran interès per la seva activitat antimicrobiana, antioxidant i anticancerígena (Sun et al., 2016) (Palacio et al., 2019).

- Estimulació a partir de molècules i nanopartícules: Tot i que hi ha molècules i nanopartícules que poden inhibir el Quorum Sensing, n'hi ha d'altres que actuen com agonistes dels receptors de senyalització bacterians, estimulants així aquest sistema. Aquest fet permet induir la producció de composts bioactius a partir de bacteris, que en el seu estat basal, els produeixen en menor o insuficient quantitat.

La molècula (5Z)-4-brom-5-(bromometilè)-3-butil-2(5H)-furanona, també coneguda com a furanona, a una determinada concentració pot estimular el Quorum Sensing de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 i *Pseudomonas aeruginosa* JB2, augmentant la síntesi i producció de sideròfors, unes molècules solubles que proporcionen ferro als bacteris que interaccionen amb plantes. En el cas de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, una concentració de 100 µg/ml de furanona, va induir 3,5 vegades més la producció de sideròfors. En canvi, en *Pseudomonas aeruginosa* JB2, una concentració d'entre 20 i 100 µg/ml de furanona, va augmentar entre 2,5 a 3,7 la síntesi de sideròfors (Ren et al., 2005).

Per altra banda, l'ús de nanopartícules de ZnO a una concentració de 0,5 mg L<sup>-1</sup> va estimular l'expressió de gens de detecció de quòrum i augment del gruix d'un biofilm de *Pseudomonas putida*. A més, a aquesta concentració es va promoure la biosíntesi de lipopolisacàrids, els quals van poder eliminar ions tòxics de zinc (Ouyang et al., 2020).

#### 4.2.2. Aplicacions en l'estimulació del Quorum Sensing

L'estimulació del Quorum Sensing en procarïotes, és a dir el foment de la comunicació entre cèl·lules bacterianes, es va plantejar com a estratègia útil en diverses situacions per a obtenir un cert interès i diferents aplicacions com en la bioremediació i biodegradació de contaminants, en l'agricultura i en la producció de metabòlits i composts bioactius.

- **Bioremediació i biodegradació de contaminants**

Al llarg d'aquestes darreres dècades, la contaminació ambiental, tant en aigües com al sòl i a l'aire, ha incrementat considerablement per l'emissió de gasos i composts tòxics, a causa de grans abocaments de petroli, illes de plàstic, fugues químiques, etc. Aquest fet ha donat lloc al replantejament de l'ús dels processos de bioremediació i biodegradació de combustibles per ajudar a solucionar aquesta problemàtica, eliminant o reduint la contaminació ambiental mitjançant microorganismes. En aquest sentit, s'ha considerat que l'estimulació de la comunicació Quorum Sensing en certs bacteris pot augmentar la producció d'enzims i metabòlits, implicats en la degradació de contaminants, millorant l'eficàcia de la bioremediació (Mangwani et al., 2016). Més concretament, la degradació de dos hidrocarburs aromàtics policíclics (fenantrè i pirè), per part d'un bacteri marí, *Pseudomonas aeruginosa* N6P6, va augmentar significativament amb l'increment de l'expressió dels gens de Quorum Sensing (*lasI* i *rhII*, que codifiquen per AHL sintasa), els quals alhora van millorar la formació del biofilm i la producció de substàncies polimèriques extracel·lulars. La biodegradació del fenantrè per part del biofilm després de 7 dies va ser del 85,7%, mentre que en el cas del pirè, va ser del 46,48% (Mangwani et al., 2015).

Segons una investigació realitzada per Balan et al. (2021), "els biofilms són ideals per a la remediació de contaminants gràcies a la seva alta biomassa microbiana i al seu potencial per a immobilitzar contaminants".

Tot i que els contaminants són biodegradats per l'activitat microbiana, sense interacció humana, conegut com a atenuació natural, el temps de biodegradació natural requereix un llarg període de temps, ja que la formació de biofilms és relativament lenta i els microorganismes degradadors de contaminants competeixen amb altres microorganismes presents al medi (Sonawane et al., 2022). Així doncs, el procés de bioremediació *in situ* podria accelerar-se mitjançant l'estimulació del Quorum Sensing.

En un estudi, en afegir *ex-situ* la molècula de detecció de quòrum [N-(3-oxododecanoil)-L-homoserina lactona] a un filtre percolador, és a dir, un bioreactor amb bacteris que degraden aeròbicament composts orgànics convertint-los en productes inerts com el diòxid de carboni i l'aigua, utilitzat per a tractar grans cabals d'aire contaminats; va millorar significativament l'eliminació de toluè, un solvent industrial, altament toxigènic i mutagènic (Chen et al., 2020).

- **Agricultura**

El sector agrícola ha derivat ja fa dècades en un model productiu d'agricultura extensiva i això ha implicat, no únicament la necessitat d'invertir molta aigua de rec, sinó l'ús indiscriminat de fertilitzants, herbicides i pesticides, els quals han tingut un impacte negatiu en el medi ambient i la salut humana. Així doncs, el model d'agricultura sostenible pretén mantenir la productivitat, al mateix temps que protegeix l'entorn. La consciència cap a la sostenibilitat ambiental ha augmentat la demanda de productes orgànics com bioherbicides, biofertilitzants i biofungicides (Abdul i Nadarajah, 2022).

Els microorganismes són una part clau en la rizosfera de les plantes, és a dir de les zones properes de les arrels d'aquestes, perquè s'hi formen comunitats bacterianes en biofilms que poden alterar la fisiologia, el creixement, el rendiment i la resistència als patògens en diverses espècies vegetals. I en la interacció entre la planta hoste i la comunitat microbiana, els sistemes de senyalització de detecció de quòrum són determinants (Besset et al., 2018).

Així doncs, per tal de millorar la producció de cultius en l'agricultura, es va proposar la inhibició del Quorum Sensing en certs bacteris fitopatogènics, com *Erwinia carotovora*, per evitar la producció dels seus factors de virulència, controlant les malalties de les plantes i garantint la seva supervivència. Diversos enzims produïts per bacteris, fongs, plantes i animals, com les lactonases, reductases, oxidases o amidases degraden o modifiquen les funcions químiques d'AHL, prevenint el Quorum Sensing de certs bacteris patògens, actuant com a agent de biocontrol. A més, aquests enzims i molècules tenen un baix impacte ambiental en els ecosistemes; en comparació amb els pesticides químics que s'utilitzen actualment en els cultius, ja que són compostos d'origen natural (Besset et al., 2018).

L'estimulació del Quorum Sensing s'ha estudiat principalment en els rizobacteris que constitueixen biofilms a les arrels de les plantes, com a mètode de bioestimulació, per a millorar la interacció bacteri-planta.

Els productes biodegradables  $\gamma$ -caprolactona i  $\gamma$ -heptanolactona, poden utilitzar-se per a incrementar la comunicació Quorum Sensing, augmentant així la formació de biofilms i colonització de les arrels per part de *Rhodococcus erythropolis*. Aquest bacteri protegeix les plantes de patates del bacteri *Pectobacterium sp.*, limitant la seva virulència i patogenicitat (Besset et al., 2018).

A més a més, s'ha demostrat que algunes plantes transgèniques poden sintetitzar molècules imitadores d'AHL per protegir-se enfront diversos patògens. És el cas de la planta transgènica del

tabac, en què en els seus cloroplasts es van incorporar plasmidis amb el gen *YenI* de *Yersinia enterocolitica*. Aquest gen codifica pel compost 3-oxo-C<sub>6</sub>-HSL que és afí al senyal AHL del patògen vegetal, *Erwinia carotovora*. Quan la planta produeix aquest compost, en el bacteri *Erwinia carotovora* s'indueix l'expressió prematura dels gens de virulència i dels enzims que degraden les parets de les plantes, quan el nombre de cèl·lules bacterianes encara és baix. Així, la planta pot protegir-se enfront infeccions bacterianes, ja que s'activen les seves respostes de defensa amb anterioritat (Kievit i Iglewski, 2000) (Loh et al., 2002).

- **Producció de composts bioactius**

Alguns microorganismes són font de composts bioactius, els quals poden tenir certes aplicacions en indústries com la farmacèutica, la cosmètica i l'alimentària. La producció d'aquests composts per part de diverses espècies bacterianes està principalment regulat pel mecanisme de comunicació Quorum Sensing. Per tant, la manipulació d'aquests sistemes i la sobreexpressió de determinats gens, pot ser utilitzat per augmentar la producció de composts bioactius.

En una sòca del bacteri *Chromobacterium violaceum*, la manipulació del sistema Quorum Sensing que involucra les proteïnes Cvil i CviR, combinada amb l'optimització del medi de cultiu amb una elevada concentració de L-Triptòfan i D-Glucosa, augmenta i maximitza la producció de violaceïna per part d'aquest bacteri, un compost amb propietats antioxidants, antitumorals i antimicrobianes, que es fa servir en la indústria alimentària i cosmètica (Savijoki et al., 2022).

Per altra banda, optimitzant les condicions nutricionals i ambientals dels cultius de forma controlada, com la temperatura, el pH, el medi de cultiu i el període d'incubació, el creixement de les cèl·lules bacterianes de *Pseudomonas aeruginosa* es veu accelerat. Aquest fet afavoreix la comunicació Quorum Sensing i posterior formació de biofilms i, alhora s'incrementa la respectiva producció de factors de virulència, com el pigment verd-blavós i exotoxina, la piocianina. Tot i que aquest metabòlit secundari pot causar la mort a les cèl·lules dels pulmons dels mamífers, els quals *P. aeruginosa* ha infectat, s'ha vist que la piocianina té nombroses aplicacions útils en diverses indústries; gràcies a la seva capacitat anticancerígena pel seu efecte citotòxic sobre cèl·lules tumorals, l'activitat antimicrobiana contra diversos patògens alimentaris i fitopatògens, entre d'altres (Elbargisy, 2021). Per tant, optimitzar i millorar la síntesi de piocianina *in vitro*, per obtenir una major disponibilitat d'aquest compost i recurs, pot ser de gran utilitat en diversos àmbits.

### 4.3. Reptes i limitacions en l'estudi del Quorum Sensing

A pesar dels recents avenços en la investigació sobre la comunicació Quorum Sensing en procariotes, encara hi ha diversos reptes i limitacions, per l'alta complexitat dels senyals químics i reguladors que involucren els diversos sistemes Quorum Sensing.

El nombre exacte d'espècies bacterianes presents en aquest planeta es desconeix i està en constant discussió en base al que es defineix com a espècie bacteriana. Alguns científics, mitjançant una compilació de dades d'estudis moleculars microbians, teories ecològiques reformulades i lleis de gran escala o lleis de potència unificades que prediuen l'abundància de les espècies dominants; estimen que en la Terra pot haver-hi més de mil milions d'espècies bacterianes, ja que la seva taxa d'especiació és considerablement superior, respecte a la taxa d'extinció. Es coneix que els bacteris són el grup d'éssers vius més abundant en la Terra i amb més biodiversitat. Però, actualment es coneixen un baix percentatge de les espècies bacterianes estimades, perquè l'alta complexitat per a cultivar els microorganismes en condicions artificials simulades en un laboratori, està dificultant molt l'estudi de la seva filogènia i taxonomia (Locey i Lennon, 2016). Alhora, cal destacar que el metabolisme microbià, és a dir el conjunt de processos bioquímics pels quals un microorganisme obté l'energia i nutrients que necessita per viure i reproduir-se, és variable entre espècies.

Així doncs, una de les principals complicacions que presenta l'alteració i modificació del Quorum Sensing és la falta d'un model universal aplicable en tots els bacteris. Però l'alta especificitat i variabilitat en els components del sistema en cada espècie bacteriana, dificulta considerablement aquest descobriment i, l'ús generalitzat de les possibles estratègies plantejades anteriorment (LaSarre i Federle, 2013).

Com s'ha descrit, cada espècie bacteriana pot presentar un tipus de comunicació, amb els respectius autoinductors, gens, enzims i proteïnes reguladores, úniques i diferents de la resta (Kievit i Iglewski, 2000). Aquest fet es planteja com un problema, ja que per a la inhibició o estimulació del mecanisme de comunicació en diversos bacteris, s'ha d'estudiar i analitzar les característiques i propietats del sistema, espècie per espècie, per així trobar el mètode específic en cada cas, fet que és molt costós i implica una gran inversió de temps. A més, abans d'iniciar el tractament contra una infecció es requereix la identificació del bacteri causant, suposant un gran desavantatge, respecte a l'ús d'inhibidors del Quorum Sensing.

I no només això, sinó que també, l'heterogeneïtat de les poblacions i comunitats bacterianes, les mutacions puntuals en les soques i la influència de l'ambient, dificulta el seu estudi, ja que alguns

sistemes de Quorum Sensing són molt dinàmics i poden patir modificacions i variacions naturals de forma espontània, en funció dels factors ambientals que envolten la cèl·lula, com la concentració de nutrients, la temperatura, el pH i la presència d'altres microorganismes, entre d'altres (Sampriti i Bassler, 2019).

A més a més, la gran capacitat d'evolució per part dels bacteris, gràcies a la seva alta taxa de mutació ha provocat que moltes espècies desenvolupin resistència a determinats antibiòtics.

S'han observat diversos casos i situacions, principalment durant el procés d'investigació en la inhibició del Quorum Sensing, en què algunes espècies bacterianes també poden arribar a ser resistents a les molècules utilitzades durant la inhibició de la comunicació bacteriana, provocant la seva pèrdua de funcionalitat; generant un nou inconvenient, sumat als ja presents en l'actualitat referent a la resistència als antibiòtics d'alguns microorganismes (García et al., 2013). Per tant, tot i que la inhibició del Quorum Sensing pot ser una alternativa realista o complementària a l'ús d'antibiòtics per a tractar infeccions bacterianes, es requereix molta més investigació en aquest camp, per trobar un tractament efectiu, que no generi nous inconvenients i, garanteixi la salut i benestar dels pacients.

Per altra banda, la baixa estabilitat de certs enzims i composts per a interferir la comunicació Quorum Sensing i, el desconeixement de la concentració mínima d'aquests per dur a terme la seva funció, suposa una altra dificultat per a la seva aplicació *in vivo*. És per això, que la gran majoria de les investigacions centrades en aquest camp, de moment es duen a terme sota condicions controlades i artificials (*in vitro*).

També, la falta d'eines efectives i mètodes vàlids per a mesurar l'activitat d'aquest mecanisme *in vivo* i en temps real sota diferents condicions ambientals, va dificultar la identificació dels composts químics que actuen com a senyal en la comunicació cel·lular bacteriana (LaSarre i Federle, 2013). Però els recents avenços en metagenòmica i mètodes d'anàlisi, com l'ús de soques biosensores en combinació amb tècniques cromatogràfiques o d'espectrofotometria, han permès seqüenciar i identificar els gens i mesurar les molècules senyal que participen en la comunicació Quorum Sensing dels microorganismes.



## 5. CONCLUSIONS

Since the discovery of the cellular communication system in bacteria and archaea, Quorum Sensing, its study has been a field of research in constant evolution, in which several opportunities and challenges have been described.

Given the large number of bacteria that use Quorum Sensing communication systems, the possibility of interfering or modifying this mechanism, in order to inhibit or stimulate it, has opened an endless number of doors. This promising strategy has been studied by several researchers in recent decades, to be able to apply it in various fields, such as biotechnology, medicine and agriculture, among others; in order to obtain a benefit and an improvement in various situations that have been presented in these areas, such as resistance to antibiotics, bacterial corrosion, biodegradation and bioremediation, sustainable agriculture and production of bioactive compounds.

Although many compounds and strategies that inhibit or stimulate Quorum Sensing activity in different microorganisms have been developed and described, regulating the expression of certain genes, some challenges and limitations still need to be overcome to advance their study and regular use, such as universality and effectiveness of these molecules in the wide variety of microorganisms, the possible acquisition of resistance to them, their environmental impact and on other organisms such as humans, etc.

Therefore, it can be concluded that despite the recent advances and studies, the interference of Quorum Sensing is still not a sufficiently feasible strategy, due to the large number of limitations it presents. So in the future, the research and understanding of Quorum Sensing communication systems in prokaryotes must continue, to take advantage of the opportunities that this process presents.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Abdul Hamid, N. W. i Nadarajah, K. (2022). Microbe Related Chemical Signalling and Its Application in Agriculture. *International journal of molecular sciences*, 23(16), 8998. <https://doi.org/10.3390/ijms23168998>
- Balan, B., Dhulaniya, A. S., Varma, D. A., Sodhi, K. K., Kumar, M., Tiwari, M. i Singh, D. K. (2021). Microbial biofilm ecology, in silico study of quorum sensing receptor-ligand interactions and biofilm mediated bioremediation. *Archives of microbiology*, 203(1), 13–30. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02012-9>
- Besset, Y., Rieusset, L., Joly, P., Comte, G. i Prigent, C. (2018). Exploiting rhizosphere microbial cooperation for developing sustainable agriculture strategies. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 29953-29970. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1152-2>
- Carradori, S., Di Giacomo, N., Lobefalo, M., Luisi, G., Campestre, C. i Sisto, F. (2020). Biofilm and Quorum Sensing inhibitors: the road so far. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 30(12), 917-930. <https://doi.org/10.1080/13543776.2020.1830059>
- Chen, X., Schauder, S., Potier, N. i Alain, V. D. (2002). Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature*, 415(6871), 545-549. <https://doi.org/10.1038/415545a>
- Chen, X., Zhang, L., Zhang, M., Liu, H., Lu, P. i Lin, K. (2018). Quorum sensing inhibitors: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 28(12), 849-865. <https://doi.org/10.1080/13543776.2018.1541174>
- Chen, C. Y., Wang, G. H., Tsai, C. T., Tsai, T. H. i Chung, Y. C. (2020). Removal of toluene vapor in the absence and presence of a quorum-sensing molecule in a biotrickling filter and microbial composition shift. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering*, 55(3), 256–265. <https://doi.org/10.1080/10934529.2019.1684120>
- Choudhary, S., Schmidt-Dannert, C. (2010). Applications of quorum sensing in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, 1267–1279. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2521-7>
- Clatworthy, A. E., Pierson, E. i Hung, D. T. (2007). Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nature chemical biology*, 3(9), 541–548. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.24>
- Dong, Y. H., Xu, J. L., Li, X. Z., & Zhang, L. H. (2000). AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(7), 3526–3531. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.7.3526>
- Dong, Y. H., Wang, L. Y. i Zhang, L. H. (2007). Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 362(1483), 1201–1211. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2045>
- Dykhuizen, D.E. (1998). Santa Rosalia revisited: Why are there so many species of bacteria?. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 73, 25–33. <https://doi.org/10.1023/A:1000665216662>
- Elbargisy R. M. (2021). Optimization of nutritional and environmental conditions for pyocyanin production by urine isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi journal of biological sciences*, 28(1), 993–1000. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.031>

- Engecrecht, J. i Silverman, M. (1984). Identification of genes and gene products necessary for bacterial bioluminescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(13), 4154-4158. DOI:[10.1073/pnas.81.13.4154](https://doi.org/10.1073/pnas.81.13.4154)
- García-Contreras, R., Maeda, T. i Wood, T. K. (2013). Resistance to quorum-quenching compounds. *Applied and environmental microbiology*, 79(22), 6840–6846. <https://doi.org/10.1128/AEM.02378-13>
- García-Contreras R. (2016). Is Quorum Sensing Interference a Viable Alternative to Treat Pseudomonas aeruginosa Infections?. *Frontiers in microbiology*, 7, 1454. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01454>
- Greenberg, E. P. (2003). Bacterial communication and group behavior. *Journal of Clinical Investigation*, 112(9), 1288-1290. <https://www.proquest.com/scholarly-journals/bacterial-communication-group-behavior/docview/200539840/se-2>
- Hentzer, M., Riedel, K., Rasmussen, T., Heydorn, A., Andersen, J., Parsek, M., Rice, S., Ebert, L., Moline, S., Hoiby, N., Kjelleberg, S. i Givskov, M. (2002). Inhibition of quorum sensing in Pseudomonas aeruginosa biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology Society*, 148(1). <https://doi.org/10.1099/00221287-148-1-87>
- Hernández, S. i Leiva, J. (2005). Bacterias multirresistentes. *Gastroenterología y Hepatología Continuada*, 4(4), 191-195. DOI: [10.1016/S1578-1550\(05\)75141-X](https://doi.org/10.1016/S1578-1550(05)75141-X)
- Ji, Y. C., Sun, Q., Fu, C. Y., She, X., Liu, X. C., He, Y., Ai, Q., Li, L. Q., i Wang, Z. L. (2021). Exogenous Autoinducer-2 Rescues Intestinal Dysbiosis and Intestinal Inflammation in a Neonatal Mouse Necrotizing Enterocolitis Model. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 694395. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.694395>
- Kalia V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology advances*, 31(2), 224–245. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.10.004>
- Kievit, T, R. i Iglewski, B. H. (2000). Bacterial Quorum Sensing in Pathogenic Relationships. *Infection and Immunity*, 68(9). <https://doi.org/10.1128/IAI.68.9.4839-4849.2000>
- Kleerebezem, M. (2004). Quorum sensing control of lantibiotic production; nisin and subtilin autoregulate their own biosynthesis. *Peptides*, 25(9), 1405-1414. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2003.10.021>
- LaSarre, B. i Federle, M. J. (2013). Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 77(1), 73–111. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00046-12>
- Li, E., Wu, J. i Zhang, D. (2021). Exogenous autoinducer-2 inhibits biofilm development of Desulfovibrio sp. Huiquan2017. *World journal of microbiology & biotechnology*, 37(7), 124. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03071-w>
- Locey, K. J. i Lennon, J. T. (2016). Scaling laws predict global microbial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(21), 5970-5975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1521291113>
- Loh, J., Pierson, E. A., Pierson, L. S., Stacey, G. i Chatterjee, A. (2002). Quorum sensing in plant-associated bacteria. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(4), 285-290. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00274-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00274-1)
- Mangwani, N., Kumari, S., i Das, S. (2015). Involvement of quorum sensing genes in biofilm development and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a marine bacterium Pseudomonas aeruginosa N6P6. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(23), 10283–10297. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6868-7>

- Mangwani, N., Kumari, S. i Das, S. (2016). Bacterial biofilms and quorum sensing: fidelity in bioremediation technology. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 32, 43-73. <https://doi.org/10.1080/02648725.2016.1196554>
- Mascher, T., Hellmann, J. D. i Hunden, G. (2006). Stimulus Perception in Bacterial Signal-Transducing Histidine Kinases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70(4). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00020-06>
- Medina, O., Ortiz, A., Jacobo, V.H. i Schouwenaars, R. (2009). Corrosión microbiológica en aceros de bajo carbono. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 10(1), 9-19. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-77432009000100002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-77432009000100002&lng=es&tlng=es).
- Miller, M. B. i Bassler, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 55, 165-199. <https://www.proquest.com/scholarly-journals/quorum-sensing-bacteria/docview/205880752/se-2>
- Montgomery, K., Charlesworth, J. C., LeBard, R., Visscher, P. T. i Burns, B. P. (2013). Quorum sensing in extreme environments. *Life*, 3(1), 131–148. <https://doi.org/10.3390/life3010131>
- Nealson, K. H., Platt, T. i Hasting, J. W. (1970). Cellular Control of the Synthesis and Activity of the Bacterial Luminiscent System. *Journal of Bacteriology*, 104(1), 313-322. DOI: [10.1128/jb.104.1.313-322.1970](https://doi.org/10.1128/jb.104.1.313-322.1970)
- Nealson, K. H. i Hastings, J. W. (1979). Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. *Microbiological Reviews*, 43(4), 496-518. DOI: [10.1128/mr.43.4.496-518.1979](https://doi.org/10.1128/mr.43.4.496-518.1979)
- Nealson, K. H. i Hastings, J. W. (2006). Quorum Sensing on a Global Scale: Massive Numbers of Bioluminescent Bacteria Make Milky Seas. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(4). <https://doi.org/10.1128/AEM.72.4.2295-2297.2006>
- Ouyang, K., Mortimer, M., Holden, P. A., Cai, P., Wu, Y., Gao, C. i Huang, Q. (2020). Towards a better understanding of *Pseudomonas putida* biofilm formation in the presence of ZnO nanoparticles (NPs): Role of NP concentration. *Environment international*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105485>
- Packiavathy, I. A. S., Maruthamuthu, S., Gnanaselvan, G., Manoharan, S., Paul, J. B. J., Annapoorani, A., Kannappan, A. i Ravi, A. V. (2019). The control of microbially induced corrosion by methyl eugenol - A dietary phytochemical with quorum sensing inhibitory potential. *Bioelectrochemistry*, 128, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.04.010>
- Palacio, V., Pérez, A., Carrascal, D. i Osorio, V. M. (2019). Antibacterial pigment production by *Serratia marcescens* using different casein types obtained from milk. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 82–90. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.62435>
- Park, J., Jagasia, R., Kaufmann, G. F., Mathison, J. C., Ruiz, D. I., Moss, J. A., Meijler, M. M., Ulevitch, R. J. i Janda, K. D. (2007). Infection control by antibody disruption of bacterial quorum sensing signaling. *Chemistry & biology*, 14(10), 1119–1127. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2007.08.013>
- Procópio, L. (2019). The role of biofilms in the corrosion of steel in marine environments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35, 73. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2647-4>
- Rasko, D. A. i Sperandio, V. (2010). Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. *Nature reviews. Drug discovery*, 9(2), 117–128. <https://doi.org/10.1038/nrd3013>
- Ren, D., Zuo, R. i Wood, T. K. (2005). Quorum-sensing antagonist (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(5H)-furanone influences siderophore biosynthesis in *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied microbiology and biotechnology*, 66(6), 689–695. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1691-6>

- Reuter, K., Steinbach, A. i Helms, V. (2016). Interfering with Bacterial Quorum Sensing. *Perspectives in medicinal chemistry*, 8, 1–15. <https://doi.org/10.4137/PMC.S13209>
- Roy, V., Adams, B. L. i Bentley, W. E. (2011). Developing next generation antimicrobials by intercepting AI-2 mediated quorum sensing. *Enzyme and Microbial Technology*, 49(2), 113-123. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.06.001>
- Ruby, E. G. (1996). Lessons from a cooperative, bacterial-animal association: The *Vibrio fischeri-Euprymna scolopes* light organ symbiosis. *Annual Review of Microbiology*, 50, 591-624. DOI: [10.1146/annurev.micro.50.1.591](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.50.1.591)
- Rutherford, S. T. i Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(11), a012427. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427>
- Sampriti, M. i Bassler, B. L. (2019). Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nature Reviews: Microbiology*, 17(6), 371-382. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0186-5>
- Savijoki, K., San-Martin-Galindo, P., Pitkänen, K., Edelmann, M., Sillanpää, A., van der Velde, C., Miettinen, I., Patel, J. Z., Yli-Kauhaluoma, J., Parikka, M., Fallarero, A. i Varmanen, P. (2022). Food-Grade Bacteria Combat Pathogens by Blocking AHL-Mediated Quorum Sensing and Biofilm Formation. *Foods*, 12(1), 90. <https://doi.org/10.3390/foods12010090>
- Scarascia, G., Lehmann, R., Machuca, L. L., Morris, C., Cheng, K. Y., Kaksonen, A. i Hong, P. Y. (2019). Effect of Quorum Sensing on the Ability of *Desulfovibrio vulgaris* To Form Biofilms and To Biocorrode Carbon Steel in Saline Conditions. *Applied and environmental microbiology*, 86(1), e01664-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01664-19>
- Schauder, S. i Bassler, B. L. (2001). The languages of bacteria. *Genes & Development*, 15, 1468-1480. DOI: [10.1101/gad.899601](https://doi.org/10.1101/gad.899601)
- Scutera, S., Zucca, M. i Savoia, D. (2014). Novel approaches for the design and discovery of quorum-sensing inhibitors. *Expert opinion on drug discovery*, 9(4), 353–366. <https://doi.org/10.1517/17460441.2014.894974>
- Shen, Y. P., Fong, L. S., Yan, Z. B. i Liu, J. Z. (2019). Combining directed evolution of pathway enzymes and dynamic pathway regulation using a quorum-sensing circuit to improve the production of 4-hydroxyphenylacetic acid in *Escherichia coli*. *Biotechnology for Biofuels*, 12 (94). <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1438-3>
- Skaugen, M., Andersen, E. L. Christie, V. H i Nes, I. F. (2002). Identification, Characterization, and Expression of a Second, Bicistronic, Operon Involved in the Production of Lactocin S in *Lactobacillus sakei* L45. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2). <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.720-727.2002>
- Sonawane, J. M., Rai, A. K., Sharma, M., Tripathi, M. i Prasad, R. (2022). Microbial biofilms: Recent advances and progress in environmental bioremediation. *The Science of the total environment*, 824. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153843>
- Sun, S. J., Liu, H. J., Weng, C. H., Lai, C. F., Ai, L. Y., Liu, Y. C. i Zhu, H. (2016). The response of *Serratia marcescens* JG to environmental changes by quorum sensing system. *Archives of microbiology*, 198(6), 585–590. <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1213-9>
- Taga, M. E. i Bassler, B. L. (2003). Chemical communication among bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(2), 14549-14554. <https://doi.org/10.1073/pnas.1934514100>

- Thelwall, M. A. (2020), Authorship and citation gender trends in immunology and microbiology. *FEMS Microbiology Letters*, 367(2). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa021>
- Tomasz, A. (1965). Control of the competent state in pneumococcus by a hormone-like cell product: An example for a new type of regulatory mechanism in bacteria. *Nature*, 208(5006), 155-159. DOI: [10.1038/208155a0](https://doi.org/10.1038/208155a0)
- Visick, K. L. i McFall-Ngai, M. J. (2000). An Exclusive Contract: Specificity in the *Vibrio fischeri*- *Euprymna scolopes* Partnership. *Journal of Bacteriology*, 182(7). <https://doi.org/10.1128/JB.182.7.1779-1787.2000>
- Warren, G., Hodgkinson, J., Bowden, S., Welch, M. i Spring, D. (2022). Quorum Sensing in Gram-Negative Bacteria: Small-Molecule Modulation of AHL and AI-2 Quorum Sensing Pathways. *American Chemical Society*, 111(1), 28-67. <https://doi.org/10.1021/cr100109t>
- Winzer, K., Hardie, K. R. i Williams, P. (2002). Bacterial cell-to-cell communication: sorry, can't talk now - gone to lunch!. *Current Opinion in Microbiology*, 5(2), 216-222. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(02\)00304-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00304-1)
- Zhang, L. H. (2003). Quorum quenching and proactive host defense. *Trends in Plant Science*, 8(5), 238-244. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00063-3](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00063-3)
- Zuo, R. (2007). Biofilms: strategies for metal corrosion inhibition employing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76, 1245-1253. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1130-6>