

Quorum sensing y resistencia a antibióticos en *Stenotrophomonas maltophilia*: ¿Están conectados estos mecanismos?

Daniel Yero, Pol Huedo, Xavier Coves, Sonia Martínez-Servat, Oscar Conchillo-Solé, Celeste Gómez, Xavier Daura, Isidre Gibert



Grupo de Patogénesis Bacteriana y Antimicrobianos (PatoBAnt).
Institut de Biotecnologia i de Biomedicina y Departament de Genètica i de Microbiologia Universitat Autònoma de Barcelona.
Edifici Mòdul B, Parc de Recerca UAB. Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), Barcelona.



Foto de los integrantes actuales del grupo. De izquierda a derecha: Xavier Daura, Sara Segura, Òscar Conchillo-Solé, Daniel Yero, Celeste Gómez, Xavier Coves, Belén Mahía, Pol Huedo, Marina Bataller e Isidre Gibert.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Stenotrophomonas maltophilia es una especie metabólica y genéticamente diversa que habita en una amplia gama de ambientes, particularmente en la rizosfera, considerada su hábitat principal en la naturaleza. Es el único miembro de la familia *Xanthomonadaceae* conocido por ser un patógeno humano oportunista. Su prevalencia e incidencia global han aumentado significativamente en la última década, especialmente en pacientes con fibrosis quística (Hatziaorou *et al.*, 2019). La

amenaza que representa *S. maltophilia* para la salud humana es su baja susceptibilidad a casi todas las clases de antibióticos (Sánchez, 2015). Por estas razones, se ha clasificado como uno de los principales organismos multiresistentes (MDR) en entornos hospitalarios, y se ha incluido recientemente en la lista de los diez microorganismos resistentes prioritarios en UCIs (Rello *et al.*, 2019).

En *S. maltophilia* se han reconocido varios factores de virulencia que podrían contribuir a la colonización de tejidos humanos,

que incluyen, entre otros, varias enzimas extracelulares y la formación de *biofilm*. Es sabido que *S. maltophilia* forma *biofilm* en una amplia gama de superficies bióticas y abióticas, incluidos dispositivos médicos como catéteres, prótesis, etc. La formación de *biofilm* facilita la persistencia bacteriana y la resistencia a la acción de los antimicrobianos, por lo que se ha considerado como una forma de resistencia fenotípica (Sánchez, 2015). Al igual que para muchas bacterias gramnegativas, el sistema de *quorum sensing* (QS) se ha considerado también un importan-

te factor regulador de la virulencia en *S. maltophilia* (Huedo *et al.*, 2018). En general, los sistemas de QS son redes de comunicación que coordinan poblaciones y comunidades bacterianas a través de moléculas conocidas como autoinductoras (AI). Estas redes son uno de los principales mecanismos que controlan la patogénesis de muchas especies de importancia clínica (Rutherford and Bassler, 2012). Estudiar cómo estas redes controlan los aspectos relacionados con la virulencia, la persistencia y la tolerancia a antibióticos en *S. maltophilia*, es uno de los objetivos de nuestro grupo de investigación.

RESULTADOS CIENTÍFICOS DEL GRUPO Y PERSPECTIVAS FUTURAS

En el sistema de QS principal de *S. maltophilia* la molécula AI es el ácido graso cis-11-metil-2-dodecanoico, conocido como DSF (del inglés *diffusible signal factor*). Los genes para la síntesis y percepción del DSF, así como el inicio de la cascada de regulación mediada por esta señal, forman parte de un clúster denominado *rpf*. Nuestro grupo ha demostrado que en *S. maltophilia* se pueden distinguir dos sub-poblaciones basadas en las diferencias en la secuencia de este clúster (Huedo *et al.*, 2014). Estas diferencias genotípicas se traducen en una significativa diversidad funcional entre las cepas del tipo *rpf-1* o *rpf-2*. Por ejemplo, las cepas de tipo *rpf-2* no producen niveles detectables de DSF en condiciones de laboratorio y son más virulentas en un modelo animal con nematodos. Sin embargo, estas cepas son capaces de producir su propio DSF y activar los mecanismos mediados por el QS, cuando perciben el DSF producido por cepas *rpf-1* (Huedo *et al.*, 2015). Por otro lado, cepas *rpf-1* mutantes en la sintasa del DSF dejan de secretar DSF, producen más *biofilm* y son menos virulentas (Huedo *et al.*, 2014). Todo esto demuestra que la coordinación de la virulencia mediada por el DSF en *S. maltophilia* es más compleja y multifactorial de lo que se pensaba.

Más recientemente nuestro grupo ha demostrado, usando un panel de 79 cepas clínicas, que las cepas de tipo *rpf-2* son efectivamente más virulentas en modelos animales, probablemente porque producen más *biofilm*. Sorprendentemente el tipo de clúster *rpf* también influencia el perfil de resistencia

de las cepas, lo que nos hace pensar en una conexión entre el sistema de QS mediado por DSF y la resistencia a antibióticos. Sabemos que una de las variantes del clúster *rpf* fue adquirida por *S. maltophilia* mediante transferencia horizontal (Huedo *et al.*, 2015), por tanto, no descartamos la hipótesis que durante estos eventos se hayan adquirido determinantes de resistencia. Nuestro grupo está ahora inmerso en estudiar con más profundidad el mecanismo de QS mediado por DSF en *S. maltophilia* e identificar los determinantes de virulencia y resistencia que podrían estar controlados por este sistema. Para ello estamos estudiando la expresión global de los genes en condiciones de cultivos que activan los sistemas de QS, como por ejemplo el inicio de la fase estacionaria o la presencia de moléculas AI. Por otro lado, se sabe ahora que *S. maltophilia* tiene mecanismos para inhibir o degradar moléculas AI secretadas por otras bacterias de su entorno (Huedo *et al.*, 2018), y tenemos indicios que algunos tipos de ácidos grasos pueden interferir con el sistema DSF de la propia célula (Huedo *et al.*, 2015). Todo esto nos ha hecho pensar en estrategias antimicrobianas alternativas basadas en la inhibición del QS. El grupo cuenta además con la experiencia de bioinformáticos que participan en buscar aquellos determinantes que podrían ser dianas atractivas para eliminar o inhibir estas bacterias.

En cuanto a la búsqueda de estrategias antimicrobianas basadas en la inhibición del QS, nuestro grupo ha dado los primeros pasos en colaboración con un grupo de la University College Cork en Irlanda (Huedo *et al.*, 2019). En este trabajo se sintetizaron y evaluaron, entre otros, compuestos químicos basados en la molécula de DSF de *S. maltophilia*. Algunas de estas moléculas fueron capaces de interferir con la comunicación célula-célula alterando la formación de *biofilm* y potenciando la actividad de la colistina, uno de los antibióticos de último recurso contra patógenos gramnegativos MDR. Esta prueba de concepto valida la estrategia de interferir con el QS bacteriano para combatir infecciones difíciles de tratar causadas por organismos MDR formadores de *biofilm*. Por otro lado, abre una puerta en la búsqueda de estrategias que potencien el efecto de antibióticos como la colistina, para la cual se detectan cada vez más cepas resistentes. Nuestro grupo ha descrito recientemente que en *S. mal-*

tophilia existe de manera casi generalizada el fenómeno de heteroresistencia a la colistina (Martínez-Servat *et al.*, 2018). Hemos visto que en una población de células susceptibles a la colistina, coexiste o surge rápidamente una subpoblación de células muy resistentes. La heteroresistencia a los antibióticos es de una gran trascendencia clínica porque es responsable del fallo de muchos tratamientos y de la persistencia de algunas infecciones. Esta subpoblación resistente tiene además mayor capacidad para formar *biofilm*, lo que refuerza nuestra hipótesis de si el sistema de QS y la resistencia a algunos antibióticos tienen elementos en común en *S. maltophilia*.

BIBLIOGRAFÍA

- Hatziagorou, E., Orenti, A., Drevinek, P., Kashirskaya, N., Mei-Zahav, M., De Boeck, K., *et al.* (2019). Changing epidemiology of the respiratory bacteriology of patients with cystic fibrosis-data from the European cystic fibrosis society patient registry. *J. Cyst. Fibros. S1569-1993(19)30838-0*.
- Huedo, P., Coves, X., Daura, X., Gibert, I., and Yero, D. (2018). Quorum Sensing Signaling and Quenching in the Multidrug-Resistant Pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Cell Infect Microbiol* 8, 122.
- Huedo, P., Kumar, V. P., Horgan, C., Yero, D., Daura, X., Gibert, I., *et al.* (2019). Sulfonamide-based diffusible signal factor analogs interfere with quorum sensing in *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia*. *Future Med Chem* 11, 1565–1582.
- Huedo, P., Yero, D., Martínez-Servat, S., Estibariz, I., Planell, R., Martínez, P., *et al.* (2014). Two different *rpf* clusters distributed among a population of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains display differential diffusible signal factor production and virulence regulation. *J. Bacteriol.* 196, 2431–2442.
- Huedo, P., Yero, D., Martínez-Servat, S., Ruyra, A., Roher, N., Daura, X., *et al.* (2015). Decoding the genetic and functional diversity of the DSF quorum-sensing system in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Microbiol* 6, 761.
- Martínez-Servat, S., Yero, D., Huedo, P., Marquez, R., Molina, G., Daura, X., *et al.* (2018). Heterogeneous Colistin-Resistance Phenotypes Coexisting in *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates Influence Colistin Susceptibility Testing. *Front Microbiol* 9, 2871.
- Rello, J., Kalwaje Eshwara, V., Lagunes, L., Alves, J., Wunderink, R. G., Conway-Morris, A., *et al.* (2019). A global priority list of the Top Ten resistant Microorganisms (TOTEM) study at intensive care: a prioritization exercise based on multi-criteria decision analysis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 38, 319–323.
- Rutherford, S. T., and Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2, a012427.
- Sánchez, M. B. (2015). Antibiotic resistance in the opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Microbiol* 6, 658.