



Memoria del 45º Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

El galio como un nuevo antimicrobiano para combatir infecciones causadas por bacterias resistentes a antibióticos

Gallium as a new antimicrobial for combating infections caused by antibiotic resistant bacteria

García Contreras, Rodolfo^{1*}; González Tinoco, Yael¹; Angarita Zapata, Vanesa², Porras Hernández, Yahira Katherine²; Florez Duarte, Monica Paola², Perez Eretza, Fabiola Berenice¹ y Sanchez-Torres, Viviana²

1. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM

2. Escuela de Ingeniería Química, Universidad industrial de Santander, Bucaramanga; Colombia

*Correspondencia. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, Avenida Universidad 3000, Col. Copilco, Coyoacán, CDMX, CP 04510 Tel. +52 (55) 5623-2356, rgarc@bq.unam.mx

Resumen

El alarmante aumento en la incidencia de multiresistencia a antibióticos de bacterias patógenas de importancia, ha propiciado la búsqueda de nuevos antimicrobianos eficaces para combatir las infecciones. Entre estos nuevos antimicrobianos se encuentra el galio: un metal con diversas aplicaciones en la medicina como la radiodetección de tumores y el tratamiento de la hipercalcemia asociada a cáncer de hueso. Los efectos antimicrobianos del galio [III] se basan en su similitud fisicoquímica con el hierro [III], con la principal diferencia de que el galio es estable y no se puede óxido reducir. Por lo que interfiere con el transporte del hierro mediado por sideróforos y desplaza al hierro en diversas enzimas implicadas en procesos vitales como la respiración, la defensa contra el estrés oxidante y la replicación del DNA. Debido a esta combinación de efectos, el galio presenta propiedades antimicrobianas promisorias tanto *in vitro* como *in vivo* en modelos de infección en animales, siendo igualmente eficaz en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* tanto sensibles como resistentes a antibióticos. Según la OMS, estas dos bacterias son de las más problemáticas y para las cuales se requieren nuevas opciones terapéuticas. En el presente artículo se

Abstract

The alarming increase in the incidence of multi-resistance against antibiotics in important pathogenic bacteria has led to the search for new effective antimicrobials to combat their infections. Among these is gallium, a metal with various applications in medicine, such as radiodetection of tumors and the treatment of hypercalcemia associated with bone cancer. The antimicrobial effects of gallium [III] are based on its physicochemical similarity to iron [III], with the crucial difference that gallium is stable and cannot be oxidized-reduced. Hence it interferes with iron transport mediated by siderophores and displaces iron from various enzymes involved in vital processes such as respiration, the defense against oxidative stress and DNA replication. Due to this combination of effects, gallium has promising antimicrobial properties both *in vitro* and *in vivo* in animal infection models, being equally effective in sensitive antibiotic strains as in antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates. These two bacteria are of the most problematic ones for which new therapeutic options are required according to WHO. In the present article the antimicrobial properties of gallium are discussed, as well as the mechanisms of tolerance and resistance to

discuten las propiedades antimicrobianas del galio, así como los mecanismos de tolerancia y resistencia a este metal descritos a la fecha y sus efectos sobre la virulencia bacteriana.

this metal described to date and their effects on bacterial virulence.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, sideróforos, antimicrobianos, resistencia a antibióticos, virulencia.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, siderophores, antimicrobials, antibiotic resistance, virulence

Introducción

Debido al alarmante aumento en la incidencia de las infecciones ocasionadas por bacterias resistentes a antibióticos, la OMS publicó en el 2017 una lista con las 12 especies de bacterias resistentes a antibióticos en las que es prioritario el desarrollo de nuevas terapias. Se estima que de no tomarse las medidas adecuadas para el año 2030, morirán alrededor de 10 millones de personas al año como consecuencia de estas infecciones, por lo que esta causa de muerte estaría superando a las que prevalecen en la actualidad como el cáncer [1].

En la lista de bacterias consideradas más peligrosas se encuentran *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* en las prioridades 1 y 2, ya que ambas especies son naturalmente insensibles a múltiples antimicrobianos. Estas son capaces de desarrollar resistencia a nuevos fármacos rápidamente y para ambas existen cepas multidroga [resistentes a al menos tres familias de antibióticos distintas] y pandroga [resistentes a todas las familias conocidas de antibióticos] [2,3].

Dentro de las posibles alternativas para su tratamiento se encuentra el uso del galio. Un elemento metálico perteneciente al grupo IIIA de la tabla periódica. Este elemento presenta diversas aplicaciones en la medicina, útil en la detección de tumores en presencia de isótopos radioactivos y en el tratamiento de la hipercalcemia asociada a tumores óseos mediante nitrato de galio [4].

Además de estas aplicaciones, se reportó su eficacia para el tratamiento de sífilis experimental en conejos y tripanosomiasis en ratón [5]. Posteriormente múltiples estudios han confirmado las propiedades antimicrobianas del galio en diversas bacterias patógenas de importancia como lo son *Mycobacterium tuberculosis*, [6,7] *Pseudomonas aeruginosa* [8,9] y *Acinetobacter baumannii* [10].

En esta revisión se discuten las ventajas y posibles inconvenientes de la utilización del galio para tratar

infecciones causadas por bacterias resistentes a antibióticos.

El galio inhibe el transporte y las funciones del hierro en las bacterias

Los efectos antimicrobianos del galio están relacionados con las similitudes fisicoquímicas que guarda con el hierro en estado III, tales como su radio iónico y de hidratación. Sin embargo a pesar de ser similares, el galio no puede óxido reducirse por lo que permanece siempre en estado III compitiendo y desplazando al hierro en múltiples procesos y reacciones esenciales para la viabilidad bacteriana [4].

En el caso de *P. aeruginosa*, el galio interfiere con el transporte de hierro III en condiciones limitantes de este metal. Este transporte se lleva a cabo mediante el sideróforo pioverdina, el cual une hierro III con gran afinidad y lo transporta a la membrana donde es reducido a hierro II para ser liberado por la pioverdina e internalizado, quedando la pioverdina libre para participar en un nuevo ciclo de transporte [11]. El galio también es capaz de unirse a la pioverdina y de secuestrarla impidiendo que ésta internalice al hierro [12] (Figura 1a).

Además de este efecto extracelular, el galio en *P. aeruginosa* puede ser internalizado mediante el sistema transportador de hierro HitAB. Este sistema consta de dos proteínas: HitA, una proteína periplásmica que une hierro III y muy probablemente galio y HitB, una permeasa de membrana interna que transporta el hierro o galio unido a HitA al interior de la célula [13].

Una vez dentro de la bacteria el galio es capaz de reemplazar al hierro III en diversas enzimas que requieren de la óxido reducción de éste para funcionar. Entre estas enzimas se encuentran la ribonucleótido reductasa que participa en la síntesis del DNA, la catalasa y la superóxido dismutasa dependientes de hierro, que están involucradas en la detoxificación de especies reactivas de oxígeno [EROS] y los complejos de la cadena respiratoria que contienen centros fierro-azufre [14]. Recientemente se demostró que el

complejo galio protoporfirina IX [precursor del grupo hemo] es internalizado por *P. aeruginosa* con lo que ocasiona la inhibición de la actividad de las citocromo oxidasas con citocromos tipo b [Cco-1, Cco-2 y de la citocromo oxidasa resistente a cianuro Cio] [15] (Figura 1b).

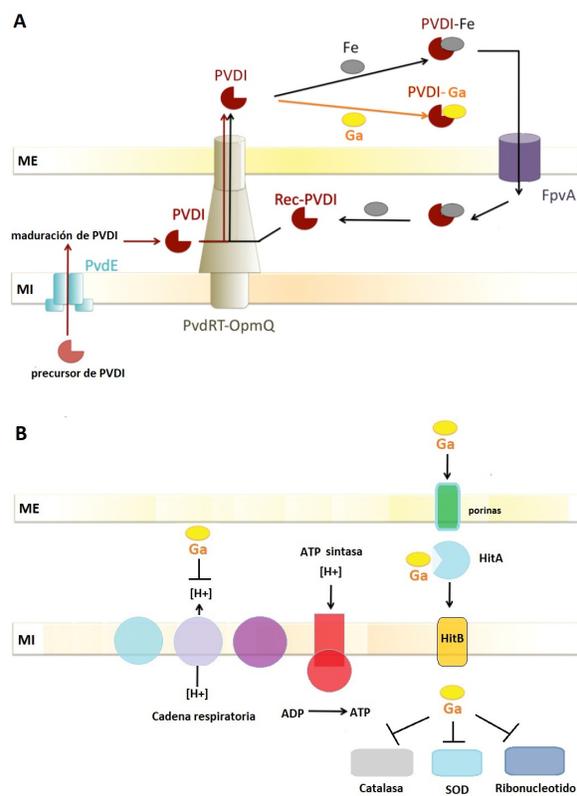


Figura 1 Mecanismos antibacterianos del galio. a) El galio extracelular puede secuestrar a la piovordina [PVDI] sideróforo principal de *P. aeruginosa*, interfiriendo con su función transportadora de hierro. ME [membrana externa], MI [membrana interna], PvdE [transportador del precursor de piovordina al espacio periplásmico], PvdRT-OpmQ [bomba transportadora de piovordina del espacio periplásmico al exterior de la célula], Rec-PVDI [pioverdina reciclada], FpvA [Receptor transportador de ferri-pioverdina]. b) El galio se internaliza al espacio periplásmico mediante porinas y es capaz de incorporarse e inhibir a la cadena respiratoria. Se internaliza al citoplasma mediante el sistema HitAB e intracelularmente se incorpora e inhibe a enzimas importantes para la detoxificación de especies reactivas de oxígeno como la catalasa y la superóxido dismutasa [SOD] y para la síntesis de ADN [ribonucleotido reductasa].

Además, existe evidencia de que el tratamiento con galio induce la producción de EROS en *Pseudomonas fluorescens*. Las bacterias expuestas a este presentan mayores cantidades de lípidos, proteínas oxidadas y una concentración mayor de peróxido de hidrógeno que las células control [16]. Este aumento en el estrés oxidante podría deberse a la inactivación de las enzimas antioxidantes como la catalasa, a su posible efecto inhibitorio sobre la cadena

respiratoria y quizá al desplazamiento del hierro unido a enzimas ya que éste quedaría libre para catalizar la formación de EROS mediante la reacción de Fenton.

Los niveles de tolerancia al galio en aislados clínicos resistentes a antibióticos son bajos.

Una propiedad atractiva del galio como antimicrobiano es que su efecto inhibitorio sobre el crecimiento *in vitro* en aislados clínicos de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* es bueno. Por lo que se deduce que los mecanismos clásicos de tolerancia y resistencia a antibióticos no se comparten con los posibles mecanismos que pudieran ayudarle a las bacterias a contener contra los efectos tóxicos del galio [8,15].

En cuanto a los factores que podrían conferirle tolerancia a galio a aislados clínicos de *P. aeruginosa*, se identificó que en suero humano aquellas cepas con una mayor capacidad de producir exoproteasas son las que presentan mayores niveles de tolerancia, esto debido a la capacidad de estas proteasas para hidrolizar proteínas transportadoras de hierro del huésped como la transferrina, lo que aumenta la disponibilidad del hierro [17] contrarrestando el efecto inhibitorio del galio. Este mismo estudio demuestra que la producción de piovordina es esencial para el crecimiento de los aislados clínicos de *P. aeruginosa* en suero humano pero que no existe una correlación significativa entre una mayor producción de este sideróforo y los niveles de la tolerancia a este metal en aislados clínicos [18].

Además de las notables propiedades antimicrobianas en *P. aeruginosa*, el galio también es efectivo *in vitro* para disminuir el crecimiento de cepas tanto sensibles como resistentes a antibióticos de *A. baumannii* en medio mínimo y en suero humano, lo que permite un sinergismo con el antibiótico colistina [19], con quelantes de hierro y con proteínas transportadoras de hierro como la transferrina [19].

La selección de la resistencia al galio podría ser menor que la selección de la resistencia a antimicrobianos clásicos.

A pesar de que la tolerancia a galio no está ampliamente distribuida en cepas nosocomiales, se cree que es posible la aparición de resistencia a este metal por la fuerte presión de selección de sus efectos bacteriostáticos y bactericidas, que bacterias tales como *P. aeruginosa* y *A. baumannii* desarrollan rápidamente [3,20,21]. Al respecto, nuestro grupo de trabajo fue el primero en explorar los posibles mecanismos de resistencia a galio mediante la

generación y caracterización de mutantes resistentes de la cepa PA14. Dichas mutantes se generaron mediante la interrupción de genes por transposición y la posterior selección de aquellas con resistencia a galio en medio mínimo a concentraciones altas de este metal y por medio de la selección de mutantes espontáneas. La secuenciación de la zona adyacente al transposón reveló que, en mutantes con un MIC₅₀ por nitrato de galio, cuatro veces mayor que el de la cepa parental, interrumpía al locus *hitAB*, posteriormente se verificó que otras mutantes [de la colección del Dr. Fred Ausubel, del Hospital General de Massachusetts] también interrumpidas en *hitA* o *hitB* presentaban resistencia y que internalizaban una menor cantidad de galio que la cepa parental [~80% menos cuando son expuestas a 10 µM]. Por lo tanto, con estos datos se propuso al sistema HitAB como el primer transportador de galio conocido en *P. aeruginosa* [13]. Por otro lado, la mutante espontánea caracterizada presentó un MIC₅₀ 12 veces mayor que la cepa parental así como una disminución en la internalización de galio y un aumento en la producción de la fenazina piocianina. La secuenciación del genoma completo de esta cepa reveló la presencia de 64 mutaciones de cambio de base en diversos genes, entre ellos algunos de los responsables de la síntesis de piocianina. En contraste, en *hitAB* no se encontraron mutaciones, por lo que la disminución de la internalización de galio en esta mutante probablemente este mediada por cambios en la funcionalidad y/o expresión de otros transportadores o bombas de expulsión. Tiempo después, Frangipani y colaboradores descubrieron otra ruta de internalización del galio mediada por el sideróforo secundario pioquelina y que las mutantes sin este sistema presentan MICs dos veces mayores que la cepa parental e internalizan alrededor de 20 % menos galio que estas (Figura 2) [22].

Una propuesta interesante del grupo de Kümmerli es que en el caso de que el efecto inhibidor del galio en el crecimiento bacteriano se restrinja exclusivamente al secuestro extracelular de pioverdina, la selección de la resistencia al galio sería muy difícil debido a que los posibles mecanismos de resistencia implicarían la producción de concentraciones mayores de pioverdina cuya adición a cepas sensibles a galio aumenta su tolerancia a este metal [8] o bien la síntesis de una pioverdina con mayor capacidad de distinguir el hierro III del galio o la producción de otro sideróforo muy específico. Sin embargo, aun existiendo bacterias que sobre produzcan pioverdina o que produzcan pioverdina [u otro sideróforo] más específico, su selección se vería restringida debido a que los sideróforos son bienes públicos ya que pueden llevar hierro a cualquier

bacteria presente en la población y no solo a aquellas que los produzcan. Por lo que el beneficio de su producción en presencia de galio se repartiría entre la población, y las mutantes productoras de altas concentraciones de pioverdina [o de una pioverdina u otro sideróforo muy específico], no se seleccionarían.

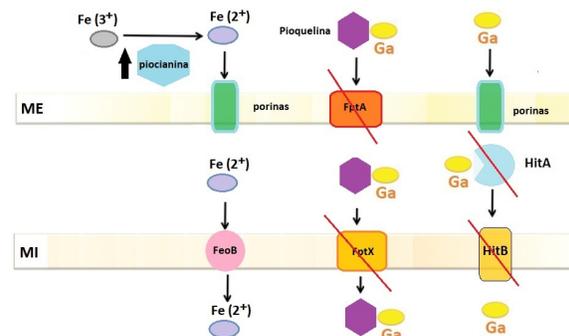


Figura 2. Mecanismos descritos de resistencia a galio. Disminución de su internalización vía los transportadores HitAB y pioquelina y sobreexpresión de piocianina la cual es capaz de reducir hierro 3⁺ a hierro 2⁺ el cual es internalizado mediante FeoB sin que el galio interfiera en este proceso.

Interesantemente, la selección de bacterias productoras de sideróforos en presencia de una alta proporción de bacterias no productoras de estas moléculas no se ha observado en experimentos de laboratorio [23] ni en comunidades bacterianas naturales [24].

Esta premisa de la no selección de resistencia a galio, se cumple aparentemente en experimentos de evolución de resistencia a galio en donde se realizan 12 cultivos secuenciales de la cepa PAO1 en medio mínimo suplementado con casamino ácidos como fuente de carbono y con transferrina con el fin de propiciar una limitación de hierro en presencia de diferentes concentraciones de galio [20 y 200 µM] o antibióticos [gentamicina, ciprofloxacino o una mezcla de ambos].

Ya que se observa la aparición de resistencia a los antibióticos de manera casi inmediata [el crecimiento se recupera] mientras que no se detecta para galio [25], en estos experimentos no se determinó experimentalmente si el galio se mantuvo en el exterior de la célula ni se tuvo la precaución de determinar la viabilidad bacteriana entre cada pase, siempre se inoculó cada cultivo serial con el mismo volumen (no necesariamente con la misma cantidad de bacterias), de manera que se pudo haber diluido la cantidad de bacterias viables entre cada pase en presencia de galio, por lo que pudo haber originado un sesgo en el resultado.

En contraste con este resultado, en el 2017 el mismo grupo de Kümmerli realizó experimentos similares encontrando resistencia a galio, solo que a diferencia del experimento anterior éste fue realizado en suero humano dando 20 pases en vez de 12 e iniciando con un inóculo bacteriano mayor y ajustando la cantidad de bacterias en cada pase para evitar el efecto de la dilución.

En este caso, la resistencia a galio se dio en tres de ocho cultivos independientes. En paralelo se realizó un experimento con fluocitosina que es un antimicótico que inhibe la producción de pioverdina en el cual se encontró resistencia en 8 de 8 cultivos, la resistencia a fluocitosina estuvo mediada por la inactivación del gen *upp*, que codifica a una fosforibosil transferasa intracelular que activa a la fluocitosina, siendo esta activación necesaria para que adquiera su actividad [26].

Las bacterias que presentaron resistencia a galio se caracterizaron por sobreproducir piocianina y presentaron mutaciones en los reguladores transcripcionales *vfr* y *mvaU*. Estos reguladores están implicados en la represión de los genes de la biosíntesis de piocianina. La participación de la piocianina en la resistencia podría deberse a su capacidad de reducir hierro III a hierro II el cual además de ser más soluble sería transportado a la célula sin que el galio pudiera interferir en este proceso. En concordancia con esta hipótesis, la adición de piocianina exógena aumenta la tolerancia a galio en PA14 pero no en una mutante del gen *feoB* que codifica para el transportador de hierro II [13]. El hierro II es más efectivo para contrarrestar el efecto inhibitorio de galio que el hierro III [27] y se ha reportado que la producción de piocianina en *P. aeruginosa* le confiere tolerancia a la plata al reducirla a plata elemental [28] lo cual representa un ejemplo de la tolerancia de *P. aeruginosa* a metales tóxicos. El hecho de que la producción de una molécula difusible como la piocianina este ligada a la resistencia a galio, parece contradecir las predicciones de estos investigadores sobre la imposibilidad de que se seleccionen bacterias que sobre producen pioverdina; sin embargo, los autores argumentan que la mayor viscosidad del suero humano en relación con el medio mínimo podría favorecer que aquellas bacterias que produzcan más piocianina se favorecieran de su actividad ya que su difusión sería más lenta en el suero que en el medio [26].

Además de los mecanismos de resistencia a galio conocidos hasta ahora, otros mecanismos como la expulsión de este o el aumento en la capacidad para contender con el estrés oxidante, también pueden

proporcionar resistencia, ya que ambos mecanismos se han descrito como parte de la adaptación de *P. fluorescens* a altas concentraciones de galio [16,29].

En contraste con el avance en el conocimiento de los posibles mecanismos de resistencia a galio en las cepas de referencia PA14 y PAO1, aún no existen reportes que estudien los mecanismos de tolerancia y resistencia a galio en cepas clínicas, del desarrollo y de selección de la resistencia *in vivo*, por lo que nuestro grupo se encuentra trabajando actualmente en estos aspectos utilizando aislados clínicos provenientes de pacientes con fibrosis quística y modelos de infección en la larva de la polilla *Galleria mellonella*.

El galio es eficaz en modelos de infección *in vivo*.

Además de los efectos inhibitorios del galio en el crecimiento *in vitro* de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, también existen numerosos trabajos que demuestran su efectividad *in vivo* para tratar infecciones animales, por ejemplo la inhalación de nitrato de galio aumenta la sobrevivencia significativamente en infecciones agudas letales de pulmón de ratón, mediadas por la cepa virulenta PA103, y en infecciones mediadas por biopelículas de la cepa PAO1 [8]. Mientras que formulado como maltolato de galio este es capaz de erradicar *P. aeruginosa* de heridas inducidas por escaldadura también en ratón [9]. La queratitis experimental en conejo se trata efectivamente con la coadministración tópica de galio, el quelante deferroxamina y el antibiótico gentamicina [30]. De manera similar el galio incrementa la sobrevivencia de larvas de *G. mellonella* infectadas con dosis letales de *A. baumannii* resistente a multidrogas [19] y contribuye a incrementar la capacidad de eliminación de esta bacteria en infecciones pulmonares en ratón [10].

El galio y sus efectos en la virulencia bacteriana

Una estrategia alternativa para el combate de los microorganismos resistentes a antibióticos, es el desarrollo y uso de agentes con propiedades de antivirulencia. Su objetivo es el de bloquear la capacidad patogénica bacteriana y disminuir la posibilidad de aparición de resistencia [31]. Algunos autores consideran al galio como inhibidor de la virulencia debido a su capacidad para secuestrar e inutilizar a la pioverdina [25,26]. Sin embargo, además de su efecto sobre la pioverdina, se ha reportado que el tratamiento con galio afecta la producción de otros factores de virulencia y la formación de biopelículas. El primer reporte sobre los efectos del nitrato de galio sobre *P. aeruginosa* en

2007, demuestra que la adición de este a concentraciones bajas (0.5-1 μM) es capaz de suprimir la formación de biopelículas en PAO1 [8]. Sin embargo, en este estudio no se evaluaron concentraciones mayores de galio y nuestro grupo de trabajo encontró en 2014 que concentraciones mayores de galio (10-25 μM) las cuales inhiben pero no abaten el crecimiento completamente, promueven la formación de biopelículas en la cepa PA14 y en dos aislados clínicos provenientes de pacientes con fibrosis quística, adicionalmente esta exposición a dosis tóxicas pero subletales del metal, aumenta la producción de los factores de virulencia piocianina, proteasa alcalina, elastasa, alginato y ramnolipidos, disminuyendo solamente la producción de pioverdina [27]. Este aumento en la producción de factores de virulencia como resultado a una exposición a galio, podría representar una posible desventaja de su utilización para tratar infecciones de *P. aeruginosa*, por lo que es necesario realizar más estudios que evalúen el efecto del tratamiento con galio en la virulencia *in vivo* a partir de infecciones experimentales en animales, antes de implementar este tipo de terapias en humanos.

En cuanto al efecto del tratamiento con galio en la virulencia de *A. baumannii* existe un estudio reciente

que demuestra que es capaz de inhibir la formación de biopelículas en suero humano de cepas de referencia y aislados clínicos multi resistentes, a una concentración de 16 μM , mientras que a concentraciones mayores (64 μM) es capaz de deshacer biopelículas preformadas [32].

Debido a la escases de nuevos tratamientos para combatir infecciones causadas por cepas multiresistentes de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, y a que el galio es una droga conocida y administrada en la clínica con otros propósitos [5,33] y a que sus efectos *in vitro* e *in vivo* en infecciones animales son promisorios, actualmente se lleva a cabo un estudio clínico fase dos "IGNITE" auspiciado por la Universidad de Washington con 120 pacientes con fibrosis quística infectados con *P. aeruginosa* a los cuales se les administró nitrato de galio de manera intravenosa con el fin de evaluar la tolerancia de los pacientes a galio. La posible mejoría en la función pulmonar de estos, la posible disminución de las cargas bacterianas, así como el desarrollo de resistencia a galio en comparación con un grupo tratado sólo con placebo, serán determinantes para una futura implementación de este en el tratamiento de pacientes infectados por estas bacterias recalcitrantes.

Referencias

- O'Neill, J. [2014] Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *Review on Antimicrobial Resistance*.
- Leite, G. C., Oliveira, M. S., Perdigao-Neto, L. V., Rocha, C. K., Guimaraes, T., Rizek, C., Levin, A. S., and Costa, S. F. [2016] Antimicrobial Combinations against Pan-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates with Different Resistance Mechanisms. *PloS one* **11**, e0151270
- Poole, K. [2011] *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max. *Frontiers in microbiology* **2**, 65
- Chitambar, C. R. [2010] Medical applications and toxicities of gallium compounds. *International journal of environmental research and public health* **7**, 2337-2361
- Rangel-Vega, A., Bernstein, L. R., Mandujano-Tinoco, E. A., Garcia-Contreras, S. J., and Garcia-Contreras, R. [2015] Drug repurposing as an alternative for the treatment of recalcitrant bacterial infections. *Frontiers in microbiology* **6**, 282
- Olakanmi, O., Britigan, B. E., and Schlesinger, L. S. [2000] Gallium disrupts iron metabolism of mycobacteria residing within human macrophages. *Infection and immunity* **68**, 5619-5627
- Olakanmi, O., Kesavalu, B., Pasula, R., Abdalla, M. Y., Schlesinger, L. S., and Britigan, B. E. [2013] Gallium nitrate is efficacious in murine models of tuberculosis and inhibits key bacterial Fe-dependent enzymes. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **57**, 6074-6080
- Kaneko, Y., Thoendel, M., Olakanmi, O., Britigan, B. E., and Singh, P. K. [2007] The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity. *The Journal of clinical investigation* **117**, 877-888
- DeLeon, K., Balldin, F., Watters, C., Hamood, A., Griswold, J., Sreedharan, S., and Rumbaugh, K. P. [2009] Gallium maltolate treatment eradicates *Pseudomonas aeruginosa* infection in thermally injured mice. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **53**, 1331-1337
- de Leseleuc, L., Harris, G., KuoLee, R., and Chen, W. [2012] In vitro and in vivo biological activities of iron chelators and gallium nitrate against *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **56**, 5397-5400
- Cezard, C., Farvacques, N., and Sonnet, P. [2015] Chemistry and biology of pyoverdines, *Pseudomonas* primary siderophores. *Current medicinal chemistry* **22**, 165-186
- Folschweiller, N., Gallay, J., Vincent, M., Abdallah, M. A., Pattus, F., and Schalk, I. J. [2002] The interaction between pyoverdin and its outer membrane receptor in *Pseudomonas aeruginosa* leads to different conformers: a time-resolved fluorescence study. *Biochemistry* **41**, 14591-14601
- García-Contreras, R., Lira-Silva, E., Jasso-Chavez, R., Hernandez-Gonzalez, I. L., Maeda, T., Hashimoto, T., Boogerd, F. C., Sheng, L., Wood, T. K., and Moreno-Sanchez, R. [2013] Isolation and characterization of gallium resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants. *International journal of medical microbiology: IJMM* **303**, 574-582
- Bonchi, C., Imperi, F., Minandri, F., Visca, P., and Frangipani, E. [2014] Repurposing of gallium-based drugs for antibacterial therapy. *BioFactors* **40**, 303-312
- Hijazi, S., Visca, P., and Frangipani, E. [2017] Gallium-Protoporphyrin IX Inhibits *Pseudomonas aeruginosa* Growth by Targeting Cytochromes. *Frontiers in cellular and infection microbiology* **7**, 12
- Berault, R., Hamel, R., Chenier, D., Mailloux, R. J., Joly, H., and Appanna, V. D. [2007] The overexpression of NADPH-producing enzymes counters the oxidative stress evoked by gallium, an iron mimetic. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine* **20**, 165-176
- Otto, B. R., Verweij-van Vught, A. M., and MacLaren, D. M. [1992] Transferrins and heme-compounds as iron sources for

- pathogenic bacteria. *Critical reviews in microbiology* **18**, 217-233
18. Bonchi, C., Frangipani, E., Imperi, F., and Visca, P. [2015] Pyoverdine and proteases affect the response of *Pseudomonas aeruginosa* to gallium in human serum. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **59**, 5641-5646
 19. Antunes, L. C., Imperi, F., Minandri, F., and Visca, P. [2012] In vitro and in vivo antimicrobial activities of gallium nitrate against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **56**, 5961-5970
 20. Maeda, T., Garcia-Contreras, R., Pu, M., Sheng, L., Garcia, L. R., Tomas, M., and Wood, T. K. [2012] Quorum quenching quandary: resistance to antivirulence compounds. *The ISME journal* **6**, 493-501
 21. Lin, M. F., and Lan, C. Y. [2014] Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World journal of clinical cases* **2**, 787-814
 22. Frangipani, E., Bonchi, C., Minandri, F., Imperi, F., and Visca, P. [2014] Pyochelin potentiates the inhibitory activity of gallium on *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **58**, 5572-5575
 23. Kummerli, R., Santorelli, L. A., Granato, E. T., Dumas, Z., Dobay, A., Griffin, A. S., and West, S. A. [2015] Co-evolutionary dynamics between public good producers and cheats in the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of evolutionary biology* **28**, 2264-2274
 24. Butaite, E., Baumgartner, M., Wyder, S., and Kummerli, R. [2017] Siderophore cheating and cheating resistance shape competition for iron in soil and freshwater *Pseudomonas* communities. *Nature communications* **8**, 414
 25. Ross-Gillespie, A., Weigert, M., Brown, S. P., and Kummerli, R. [2014] Gallium-mediated siderophore quenching as an evolutionarily robust antibacterial treatment. *Evolution, medicine, and public health* **2014**, 18-29
 26. Chiara Rezzoagli, D. W., Michael Weigert, Stefan Wyder, Rolf Kummerli. [2017] Probing the evolutionary robustness of anti-virulence treatments targeting iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*. *bioRxiv*
 27. Garcia-Contreras, R., Perez-Eretza, B., Lira-Silva, E., Jasso-Chavez, R., Coria-Jimenez, R., Rangel-Vega, A., Maeda, T., and Wood, T. K. [2014] Gallium induces the production of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathogens and disease* **70**, 95-98
 28. Muller, M., and Merrett, N. D. [2014] Pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa* confers resistance to ionic silver. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **58**, 5492-5499
 29. al-Aoukaty, A., Appanna, V. D., and Falter, H. [1992] Gallium toxicity and adaptation in *Pseudomonas fluorescens*. *FEMS microbiology letters* **71**, 265-272
 30. Banin, E., Lozinski, A., Brady, K. M., Berenshtein, E., Butterfield, P. W., Moshe, M., Chevion, M., Greenberg, E. P., and Banin, E. [2008] The potential of desferrioxamine-gallium as an anti-*Pseudomonas* therapeutic agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**, 16761-16766
 31. Allen, R. C., Popat, R., Diggle, S. P., and Brown, S. P. [2014] Targeting virulence: can we make evolution-proof drugs? *Nature reviews. Microbiology* **12**, 300-308
 32. Runci, F., Bonchi, C., Frangipani, E., Visaggio, D., and Visca, P. [2017] *Acinetobacter baumannii* Biofilm Formation in Human Serum and Disruption by Gallium. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **61**
 33. Minandri, F., Bonchi, C., Frangipani, E., Imperi, F., and Visca, P. [2014] Promises and failures of gallium as an antibacterial agent. *Future microbiology* **9**, 379-397.



DR. RODOLFO GARCÍA CONTRERAS

Es licenciado en Investigación Biomédica Básica por parte la Facultad de Medicina de la UNAM (2002) y Doctor en Ciencias Biomédicas (UNAM,

2005), realizó una estancia postdoctoral en el laboratorio del Profesor Thomas K. Wood en la Universidad A y M de Texas (2005-2007) y una segunda estancia en la Universidad Libre de Ámsterdam (2007-2010) bajo la dirección del Dr. Fred Boogerd, fungió como Investigador en Ciencias Médicas Nivel C en el Departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología del 2010 al 2014, año en que se incorporó como Profesor Asociado C al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la UNAM donde labora actualmente, es miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel II desde el 2017. Sus intereses de investigación comprenden el estudio de la implementación y resistencia a nuevos antimicrobianos en bacterias patógenas, la comunicación celular bacteriana y la identificación de actividades antimicrobianas en fármacos con otros usos clínicos.