

Mikroorganizmalar Arasında Çoğunluk Algılanması (Quorum Sensing)

Gökşen GÜLGÖR^{1*}, Mihriban KORUKLUOĞLU¹

¹Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

*e-mail: goksengulgor@uludag.edu.tr; tel: 0224 294 15 06

Özet: Mikroorganizmalar arasındaki iletişim mekanizması son yıllarda birçok bilimsel araştırmaya konu olmuştur. “Çoğunluk algılanması” ya da “Quorum sensing” (QS) olarak bilinen bu iletişim şekli ile mikroorganizmalar, çevrelerindeki mikrobiyel yoğunluğu ortama verdikleri sinyal molekülleri ile algılayabilmektedirler. Ortamda artarak, biriken sinyal moleküllerinin üretildikleri hücrenin metabolizmasını yeniden düzenleyebilme yeteneğine sahip olduğu da yapılan araştırmalarda ortaya çıkmıştır. Özellikle patojenite ve virulens özelliklerin ortaya çıkmasında etkili olan biyofilm tabakasının oluşmasında da mikroorganizmalar arası iletişimin önemi bilinmektedir. Mikroorganizmalar arasında gözlemlenen iletişim sistemleri hücrelerin yoğunluğuna bağlı bir toplu davranış biçimi şeklinde çalışmaktadır. Bu derleme mikroorganizmalar arasında görülen çoğunluğun algılanması mekanizmalarının geniş kapsamlı olarak incelenmesi ve çalışma koşullarının irdelenmesi amacı ile yazılmıştır. Her bir mikroorganizmanın kendi tür ve cinslerinin yanı sıra diğer mikroorganizmalar ile de ürettikleri sinyal molekülleri aracılığıyla iletişime geçmesi ve bunun sonucunda ortaya çıkan özellikler anlatılmaktadır. Derleme kapsamında gıda endüstrisi ve insan sağlığı açısından tehdit unsuru olan patojen mikroorganizmalar ile yararlı amaçlarla kullanılan endüstriyel mikroorganizmaların QS mekanizmaları üzerinde durulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Çoğunluk algılanması (QS), çoğunluk algılanmasının engellenmesi (QQ), sinyal, biyofilm, gıda.

The Signal Transmission Among Microorganisms (Quorum Sensing)

Abstract: In recent years, the signalling mechanism among the bacteriae have become an object of many scientific researches. Microorganisms can detect the density of the microbial cells around them due to their signal molecules which are spreaded around with the speech known as “Signal transmission” or “Quorum sensing” (QS). The fact has been shown up that the signal molecules, which increase and accumulate in the medium, can regulate the metabolism of the cell which are produced by. It is known that the importance of communication among microorganisms in forming of biofilm layer which is effective on coming forward of pathogenity and virulance properties especially. The communication systems, which are observed among microorganisms, work as collective behaviour style according to the density of cells. This review was written for examination of signal transmission mechanisms among microorganisms exhaustively and scrutinising of their working

conditions. It is explained each microorganism communicates with other microorganisms as well as self-species and self-family by signal molecules and consequently resultant properties are mentioned. In this review, it is dwelled upon pathogen microorganisms, which are threat risk in the food industry and for human health, and QS mechanisms of industrial microorganisms used for beneficial purposes.

Key Words: Quorum sensing (OS), quorum quenching (QQ), signal, biofilm, food.

Giriş

Yüksek canlılarda doku, organ ve vücudun hücresele bir yanıt üretebilmesi için her zaman hücreler arası sinyalleşmeler kullandığı bilinmektedir (Karaboz ve Sukatar, 2004). İnsan vücudundaki hücrelerde de gözlemlendiği gibi mikroorganizmalar ve diğer organizmalar, aktivitelerini kontrol etmek için küçük ve yayılabilir özellikteki sinyal moleküllerini kullanırlar. Hücreler arası “çoğunluk algılanması” ya da “quorum sensing” (QS) olarak adlandırılan bu mekanizma ile mikroorganizmalar ürettikleri sinyal moleküllerinin yoğunluğunu ölçebilmekte ve çevrelerindeki diğer mikroorganizmaların miktarını da hissedebilmektedir. Bu sayede koloni olarak göstermeleri gereken davranış şekilleri, bir hücreden diğerine sinyal molekülleri ile iletilebilmektedir (Annous ve ark. 2009; Gün ve Ekinci, 2009). Kullanılan bu biyo-sinyallerin yapısına bağlı olarak, hücrelere giriş için farklı iz-yollarının kullanıldığı bilinmektedir (Karaboz ve Sukatar, 2004). Ayrıca QS’in mikrobiyel gelişim, spor oluşumu, antibiyotik sentezi ve direncinin oluşumu, virülens faktörlerin ortaya çıkması, hücre ayırımı ve patojen bakteri enfeksiyonlarında diğer fiziksel olaylarla birlikte mikroorganizmanın beslenme değişimini düzenlediğine inanılmaktadır. Bu hücreler arası iletişimi sağlayan mekanizma, kendiliğinden sinyal üretebilen ve “Oto-indükleyici” adı verilen moleküllerden oluşmaktadır ve bu moleküller üretildikleri hücrenin metabolizması üzerinde düzenleyici etki göstermektedirler (Bai ve Rai, 2011). Bazı mikroorganizmaların ise birden fazla sayıda ve farklı QS molekülü kullandıkları bilinmektedir. Çoğunluk algılanması, mikroorganizmalarda türler arası ve tür içi olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Gram negatif bakterilerde türe göre değişmekle birlikte, oto-indükleyici olarak N-açıl homoserin ve oligopeptidler, gram pozitif bakterilerde ise çoğunlukla oligopeptidler kullanılmaktadır (Bassler, 1999; Ahmer, 2004; Gün ve Ekinci, 2009).

QS araştırmalarının temel noktası, mikrobiyel olarak çoğunluk algılanması mekanizmasının işleyişini belirlemek olup, bu sistemi engelleme ya da mekanizmanın işleyişini bozma gibi işlemler ile mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulmasına olanak sağlanmasıdır. Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmalarda hücreler arası iletişimin engellenmesi ile ilgili mekanizmalar da “Quorum Quenching” (QQ) olarak adlandırılmaktadır. QQ mekanizması ile QS mekanizması birbirinin antagonisti olan proseslerdir. Patojenitesi olan ve biyofilm oluşturan mikroorganizmaların faaliyetlerinin önlenmesi için kullanılan birçok enzim ve inhibitör olmasına karşın, gerek klinik gerekse başta gıda fabrikaları olmak üzere diğer sektörlerde biyofilm oluşumunun engellenebilmesi amacı ile yeni bir yaklaşım olan QQ ile QS moleküllerinin üretiminin durdurulması, inhibisyonu ya da bu moleküllerin parçalanması gibi araştırma konuları ortaya çıkmıştır (Ulrich, 2004; Song ve ark. 2014).

Mikroorganizmalar Arası Sinyal İletimi ve Gıdalarda Bozulma Etmenleri

Gıda bozulması oldukça karmaşık bir süreç olup, gıda içinde doğal olarak meydana gelen mikrobiyel aktiviteden dolayı birçok biyokimyasal değişim ortaya çıkmaktadır. Bu durum, gıda bozulmalarının en büyük etkenidir. Mikrobiyel bozulma sonucu çok büyük miktarda gıda çöpe atılmakta ve bu durum gıda endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olduğu gibi toplum sağlığını da ciddi anlamda tehdit etmektedir. Mikrobiyel gelişme gıdalarda hem görünüş olarak hem de gıdanın tekstürel yapısındaki değişim ile kendini kolayca belli eder. Kötü tat ve koku oluşumu mikrobiyel gelişmede ortaya çıkan metabolitlerden ileri gelmektedir (Gram ve ark. 2002). Son yıllardaki bilimsel bakış açısına göre mikroorganizma topluluklarında gözlenen proteolitik, lipolitik sakkarolitik ve pektinolitik özelliklerin, çoğunluğun algılanması mekanizması ile kazanıldığı fikri ortaya çıkmıştır. Yeterli bir hücre yoğunluğuna ulaşan bakteri hücrelerinden ortama salınan sinyal molekülleri sayesinde toplu davranış şekilleri ortaya çıkmaktadır. Geçmiş yıllarda bakterilerde çoğunluk algılanması mekanizmasının sadece patojenitenin ortaya çıkmasında geçerli olduğu düşünülürken, son zamanlarda gıda bozulmalarında da aynı durumun söz konusu olduğu belirtilmektedir (Bai ve Rai, 2011).

Gıdaların raf ömrü ve paketlenme yöntemlerinin de çoğunluk algılanması mekanizması üzerine etkili olduğu yapılan bazı çalışmalarda ortaya konulmuştur. Örneğin, etlerin paketlenmesinde kullanılan atmosfer koşulları (havalı ortam, modifiye atmosfer, esansiyel yağ ile modifiye edilmiş atmosfer) ve depolama sıcaklıklarının (0, 5, 10 ve 15°C) sinyal moleküllerini etkilediği bildirilmektedir. Modifiye atmosfer ile paketlenmiş ve belirtilen sıcaklık derecelerinde depolanan et ürünlerinde “açillenmiş homoserin lakton” (AHLs) ve “otoindükleyici-2” (AI-2) olarak adlandırılan otoindükleyici moleküllerin varlığı tespit edilmiş olup; esansiyel kekik yağı ile modifiye edilmiş atmosfer koşullarında paketlenen et örneklerinde benzer otoindükleyici moleküllere rastlanmamıştır. AHL ve AI-2 sinyal moleküllerinin tespitine yönelik yapılan çalışmalarda birçok et ürününden yararlanılmış ve farklı gıdaların bozulması ile alakalı çok sayıda fenotipik özelliğin (pektinolitik, lipolitik, proteolitik aktiviteler ve biyofilm oluşumu, yapışkan yapı gibi) QS düzenlenmesine bağlı olduğunun bilinmesine rağmen, çok çeşitli kendine özgü molekül ve bileşenlerin de QS mekanizması ile iletişimi en aza indirdiği ya da maskeleyiği de gözlemlenmiştir (Gram ve ark. 2002). Bu durumda QS mekanizmasının çalışmasını tetikleyen ve engelleyen bileşenlerin incelenmesi gerektiği düşünülmekte olup, bu yaklaşım ile de *Pseudomonas* cinsine ait türlerin et ürünlerinde ve depolama koşullarında yaptığı bozulmalara benzer gıda bozulmalarının önüne geçilmesi için bir adım atılmış olacaktır (Gram ve ark. 2002; Blana ve Nychas, 2014).

Gıdalarda meydana gelen bozulmalar dışında gıda fabrikalarında ham madde, ara ürün ya da son ürünün temas ettiği konveyör sistemlerde ya da paslanmaz çelik boruların iç yüzeylerinde, dirsek kısımlarında da yeterli temizliğin sağlanamaması sonucunda biyofilm oluşumu, olumsuz şartlarda mikroorganizmalar arasında QS mekanizmasının aktif hale gelmesine neden olabilmekte ve sonuç olarak biyofilm tabakaları meydana gelebilmektedir. Bu durum gıdanın bozulması ve insan sağlığı açısından büyük risk yaratması gibi sonuçları beraberinde getirmektedir. Gıda işletmelerinde, temizliğin yapılmasının oldukça zor olduğu kör noktalarda, biyofilm tabakası ilk olarak tek bir hücrenin abiyotik yüzeye tutunması ile başlamakta ve sonrasında zamana bağlı olarak geri dönüşümlü ya da dönüşümsüz bağlanma olmak üzere iki ayrı yoldan biyokimyasal reaksiyonların meydana gelmesi ile sonuçlanmaktadır. Geri dönüşümlü bağlanmada bakteri hücresi, bulunduğu yüzeye Van der

Waaals ve elektrostatik zayıf bağlar ile tutunmakta, geri dönüşümsüz bağlanma ise dipol-dipol, hidrofobik, iyon-dipol ve kovalent bağlar ve hidrojen etkileşimli güçlü kimyasal bağlar ile bakteri hücrelerinin yüzeye tutunması sonucunda oluşmaktadır (Myszka ve Czaczyk, 2011). Abiyotik yüzeye geri dönüşümsüz bağlanma olduktan sonra birçok dezenfektan ve kimyasal maddenin biyofilm tabakasını çözemediği ve inaktivasyonun sağlanamadığı bilinmektedir. Bu nedenle QS mekanizması ve zararlı mikroorganizmaların sadece gıda yüzeyinde değil, gıdanın temas ettiği her yüzeyde oluşabileceği göz önüne alınmalı ve hijyenik koşullar buna göre düzenlenmelidir.

Patojen Mikroorganizmalarda Çoğunluk Algılanması ve Etkileri

İnsan sağlığını olumsuz yönde etkileyen patojen mikroorganizmaların bir ortamda tutunup, gelişmesi ve çoğalması ile hâkim florayı oluşturması sonucunda enfeksiyonlar, salgınlar gibi riskler ortaya çıkabilmektedir. Gıda endüstrisinde de kullanılan alet, ekipmanların yeterli temizliğinin sağlanamaması durumunda mikroorganizmalar yüzeylere tutunmakta ve biyofilm oluşturarak, gıda ile teması sonucunda insan sağlığını tehdit edebilmektedir (Annous ve ark. 2009). Biyofilm oluşumu da ilk olarak 1980'li yıllarda dış plaklarında gözlemlenmiştir. Genel olarak biyofilm tabakası, mikrobiyel hücre yoğunluğunun belirli bir düzeye ulaştıktan sonra çoğunluk algılanması ile oluşan, dış koşullara oldukça dayanıklı ve yüzey üzerine sıkıca tutunma yeteneğindeki yapıdan oluşmaktadır. Ancak, bazı biyofilm tabakaları herhangi bir yüzeye tutunma gereksinimi duymadan, serbest halde iken de patojen formatını koruyabilmektedir. Konakçı olarak insan vücudunu kullanıyorsa bulunduğu organ ve ortam koşulları hem patojenitesini hem de davranış şekillerini etkilemekte, biyofilm tabakasının da genel özelliklerini belirlemektedir (Bjarnsholt ve ark. 2013). Mikroorganizmaların biyofilm oluşumunu hücreden hücreye yollanan iletişim sinyalleri aracılığıyla kontrol ettiği bilinmekte olup, bir bakteri patogenezi için çevreye uyum sağlamakta ve çevreden gelen uyarıları algılayarak yanıt geliştirmektedir. Çevre koşulları değiştiğinde, metabolizmasında değişiklikler yaparak yeni ortama adapte olmaya çalışmaktadır. QS mekanizması da mikroorganizmanın genetik faktörlerine bağlı olarak yönetilmektedir. QS moleküllerinin ortamda birikmesi ile algılanan sinyallerin biyofilm oluşumunu başlattığı belirtilmektedir (Bai ve Rai, 2011).

Biyofilm tabakasının oluşturulma nedenleri aşağıda sıralandığı gibidir (Davey ve O'toole, 2000; Fetzner, 2014);

1. Çevresel etmenlerden korunmak,
2. Besinlere erişilebilirliğin artırılması ve metabolik olarak diğer mikroorganizmalar ile işbirliği içinde bulunmak, senkronize halde hareket edebilmek,
3. Yeni ve farklı genetik özellik ve davranış şekillerinin ortaya çıkabilmesi.

Biyofilm tabakası, içinde mikroorganizmaları barındıran korunaklı bir yapı olup, biyofilmi oluşturan mikroorganizmalar antimikrobiyel ajanlara ve dezenfektanlara karşı planktonik şekillerine oranla 200-500 kat daha dirençlidir. Bu yolla oluşan direncin mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamış olup, glikokaliks bileşimi, hücre dışı enzimler, besin sınırlaması, dezenfektanın hücrelere ulaşmasında zorluk gibi çeşitli faktörlerin ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bakteriler biyofilm tabakasından uzaklaştırılıp, uygun bir sıvı kültür ortamına aşılandıklarında, dirençli oldukları dezenfektanlara tekrar duyarlı hale gelmektedirler (Uludağ Altun ve Şener, 2008). *S. aureus*'un faaliyetlerini

düzenleyen *sarA* geninde mutasyon meydana gelirse biyofilm oluşum mekanizmasının da yavaşladığı belirtilmekte olup, genetik mutasyonların da biyofilm oluşumu ve dolayısı ile çoğunluk algılanması mekanizmalarını değiştirdiği belirtilmektedir (Beenken ve ark. 2004). Geçmiş yıllarda görülen gıda kaynaklı salgınların antibiyotiklere karşı dirençli olması ve kolay önlenememesinin de çoğunluk algılanması mekanizması ile oluşturulan biyofilm tabakasından kaynaklandığı varsayılmaktadır. Örneğin, 1982 ile 2002 yılları arasında rapor edilen 7 ayrı *E.coli* O157:H7 salgınının elma suyu ve cider ile insanlara bulaştığı gözlenmiştir. Taze elmaların, dezenfektan yardımı ile ya da su ile yıkanmasının ardından elmanın kaliks kısmına erişim zor olduğu için, *E. coli*'nin bu kısımdan uzaklaştırılmadığı durumların söz konusu olduğu anlaşılmıştır. Burada yer alan mikroorganizma ise kanallardan içeri girerek meyvenin çekirdek kısmına kadar ulaşabilmekte, biyofilm oluşturarak, dayanıklı hale gelmekte ve elma suyu üretiminde sorun oluşturmaktadır. Benzer şekilde marul, ıspanak gibi çok az işlem gören yeşilliklerin de yüzeyinde *E.coli* O157:H7 tarafından biyofilm oluşur ise ölümler ile sonuçlanabilecek salgınlar meydana gelebilmektedir. Dünyanın çeşitli ülkelerinde bu tür salgınlara geçmiş yıllarda sıklıkla rastlanıldığı rapor edilmiştir (Annous ve ark. 2009; Bai ve Rai, 2011). Çoğunluk algılanması mekanizmasının insan ve bitki patojenlerinde virülensi etkilediği de bilinmektedir. Ortamdaki hücre yoğunluğu yeterli sayıya ulaşana kadar çoğunluk algılanması mekanizması virülens faktörün üretilmesini ertelemekte ve yeterli sayı bulunduğu ortamda sinyal molekülleri enfeksiyon oluşumunda ön planda olan virülens faktörün sentezini indüklemektedir (Bassler, 1999).

Çoğunluk algılanması mekanizmasının gıda endüstrisine pozitif etkilerinin de olabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre Kore'ye özgü fermente bir gıdadan izole edilen *Lactobacillus sakei* suşlarından birinin enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7'nin virülens etkisini Al-2 sinyal molekülü ile inhibe edebildiği tespit edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin geleneksel fermente gıdalarda yaygın kullanımı göz önüne alındığında, hastalık etmeni olan mikroorganizmaların patojenitesini azaltabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. Bu özelliği sayesinde gıda endüstrisinde de son ürünü istenmeyen mikroorganizmaların etkisinden koruyabilecektir (Park ve ark. 2014). Benzer bir başka çalışmada ise aynı otoindükleyici molekülün (Al-2) *L. acidophilus* tarafından üretildiği bir ortamda *Clostridium difficile*'nin gelişmesini ve toksin üretmesini engellediği belirtilmektedir (Yun ve ark. 2014).

QS Mekanizmasıyla Kontrol Edilen Türe Özgü Davranışlar

N-açilhomoserin laktonun, Als olarak bilinen bir otoindükleyici molekül olduğu ve Gram negatif bakterilerde QS mekanizmasını oluşturduğu bilinmektedir. Als'nin ayrıca bitki patojeni mikroorganizmalardan *Erwinia* ve *Pseudomonas*'ın bazı genlerinin ifadesi gibi farklı biyolojik alanlarda da fonksiyonların düzenlenmesinden sorumlu olduğu belirtilmektedir. *Bacillus*'un bazı türlerinin Als üzerine enzimatik inaktivasyonu sağladığı bildirilmektedir. Bu durumda bir mikrobiyel faaliyetin indüklenmesi ya da inaktif edilmesi açısından bir başka mikrobiyel sinyal molekülünün kullanımının uygun olabileceği düşünülmektedir (Dong ve ark. 2000).

Çoğunluk algılanması mekanizması ilk olarak *Vibrio harveyi* ve *Vibrio fischeri*'de biyoluminesans oluşumunun gözlenmesi ile keşfedilmiştir, ancak günümüzde QS mekanizmasının Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere ve hatta diğer

mikroorganizmalara kadar geniş bir alanda gözlemlendiği belirtilmektedir (DeLisa ve Bentley, 2002). İlk keşfedildiği dönemlerde QS mekanizması her ne kadar bakterilere mal edilmiş olsa da, zaman içinde yapılan araştırmalar ile hem prokaryot hem de ökaryot canlılar tarafından kullanıldığı gözlemlenmiştir. Bu durumda QS mekanizmasının; aynı türe ait bakteriler arasında, farklı bakteri türleri arasında ve prokaryot canlı ile ökaryot konağı arasında gerçekleştiği belirtilmektedir (Avcı, 2009).

Gıda kaynaklı hastalık yapan mikroorganizmalar arasında yer alan *Listeria monocytogenes* ile yapılan bir çalışmada *L. monocytogenes*'e ait 21 suşun biyofilm oluşumu ile cama tutunma kapasitesi ve özellikleri incelenmiştir. 37 °C'de suşların biyofilm oluşturarak, cam yüzeye tutunma özellikleri arasında karşılaştırma yapılmış ve hastalığa neden olan suşların 3 saatlik inkübasyon sonunda diğerlerine oranla cam preparatlara önemli oranda tutunma gösterdikleri belirlenmiş, ancak biyofilm oluşumunun tutunmaya etkisinin 24 saatlik inkübasyonun ardından ortaya çıktığı belirtilmiştir. Çalışma sonucuna göre hücre yüzeyi hidrofobisitesi ile cam yüzeyine bakteriyel tutunma arasında herhangi bir korelasyonun olmadığı belirtilmektedir. 3 saatlik inkübasyon sonunda yüzeye tutunmuş haldeki bakteri hücrelerinin, diğerlerine oranla oldukça yüksek seviyede karbonhidrat ürettikleri ve bunun biyofilm oluşumuna pozitif etkisinin olduğu anlaşılmıştır. EPS üretiminin biyofilm oluşumunda önemli role sahip olduğu ve polisakkaritlerin de EPS içerisindeki en önemli bileşenler olduğu bilinmekte olup, daha az oranlarda nükleik asit ve proteinlerin de var olduğu belirtilmektedir. Literatürdeki araştırmalarda, bazı *L. monocytogenes* suşlarının eksopolisakkarit üretme oranları ile üç boyutlu biyofilm yapısının oluşumu arasında korelasyon olduğuna dair sonuçlar bildirilmektedir. Ancak, hücre yüzeyinin fizikokimyasal özellikleri ve bakterinin polisakkarit üretme oranı ile yüzeye tutunarak kolonize olabilme kabiliyeti arasındaki ilişki henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Çalışmalar kesin bir sonuç vermemiş olsa da, elde edilen bilgiler ışığında, *Listeria monocytogenes* suşlarının karbonhidrat üretme yeteneği yüksek olanlarda daha yoğun bir EPS üretimi ve biyofilm oluşumu tespit edildiği bilinmekte, dolayısıyla da karbonhidrat üretim mekanizmaları genetik olarak ya da farklı kimyasallar ile değiştirilebilirse biyofilm oluşumunun da yavaşlatılabileceği ya da önlenebileceği düşünülmektedir (Chae ve ark. 2006).

Helicobacter pylori, gastro-intestinal sistemde gastrit ve daha ileri boyutta midede ülsera neden olan bakteri olarak bilinmekte olup, gastrik epitel hücreleri ile mukus tabakasına tutunabildiği gibi, yapılan araştırmalar sonucunda, su dağıtım sistemlerinden, su arıtma tesislerindeki boruların iç yüzeylerinden, derelerden, kuyu ve yer altı sularından da izole edildiği bildirilmektedir. Midede ekstraselüler yapıda müsinin (gastro-intestinal sistemde bulunan mukopolisakkarit yapıdaki organik madde) varlığından dolayı *H. pylori*'nin başlangıçta mide epitel yüzeyine tutunamadığı, zayıf bağlar ile tutunabilen hücrelerin ise müsin ile sürekli olarak yıkanması nedeniyle tutunmasının süreklilik arz edemediği, dolayısıyla da planktonik formda serbest halde bulunduğu belirtilmektedir. Müsin sıvısının özellikle *H. pylori* gelişimi ve biyofilm oluşumu üzerine etkileri incelenmiş ve müsin yoğunluğu arttıkça, bakteri planktonik formunun çoğaldığı, ancak biyofilm oluşumunun engellendiği saptanmıştır. QS sinyallerinin midede birikmesi sonucunda bakteri hücreleri migrasyona uğrayarak, epitel yüzeye tutunmakta ve mikro-kolonilere ayrılmaktadır. Zayıf şekilde epitel yüzeyine bağlı olan mikrokoloniler ürettikleri EPS ve biyofilm tabakası sayesinde yatay ve dikey olarak genişlemeye başlamakta, gereksinim duydukları besin maddelerini ise biyofilm tabakası içindeki kanallar yardımı ile

sağlamaktadırlar. Bu durumda, ortamda mûsin bulunması durumunda QS mekanizmasının inhibe olduğu ve biyofilm oluşunun engellenebildiği belirtilmektedir. *H. pylori*'de biyofilm oluşumundan sorumlu iki gen (*cagE*, *luxS*) bulunduğu bilinmekte olup, bu genlerin mutasyona uğratılması sonucunda biyofilm oluşumunun önlenemediği bildirilmektedir. Olgun biyofilm tabakasının biyosit ve antibiyotiklere karşı planktonik formdaki hücelere oranla çok daha dirençli olmalarında; hücrelerin yapısının farklılaşmış olması, hayatta kalmaya ısrarlı olan hücrelerin biyofilm tabakası içinde yoğun olarak yer alması ve gelişme eğrisinin durağan evresinde olması gibi nedenler örnek gösterilebilir (Cole ve ark. 2004).

Quorum Sensing Mekanizmasını Engelleme Yöntemleri (Quorum Quenching)

Hücreler arası çoğunluk algılanmasının engellenmesi, özellikle klinik mikrobiyoloji ve gıda mikrobiyolojisinde istenmeyen mikrobiyel gelişim ve biyofilm oluşumunun bertaraf edilmesi açısından oldukça önemlidir. Bunun sağlanması için ise çoğunluk algılanması mekanizmasının bozulması ile sinyal molekülünün üretimini engellenmesi ya da oluşan molekülün parçalanması gerekmektedir. Bu amaç doğrultusunda ortaya çıkarılan sistem ve mekanizmalar da gruplara ayrılabilir. Bu duruma en uygun örneklerden biri *S. aureus*'da gözlenmekte olup, virülens faktörün ortaya çıkmasını sağlayan Agr sisteminin aktif hale gelip, virülens özelliğin ortaya çıkabilmesi için bakteri hücre yoğunluğunun belirli bir seviyeye ulaşma zorunluluğu bulunmaktadır (Song ve ark. 2014). AIP adı verilen otoindükleyicinin ise Agr'nin çalışmasını düzenlemek ile görevli olup, biyofilm tabakası içinde sentezlenip, salgılandığı belirtilmektedir (Oppenheimer-Shaanan ve ark. 2013). Bakteriyel enfeksiyonların kontrolünde QS mekanizmasının yıkımının antibiyotiklere alternatif bir yöntem olduğu düşünölmektedir. Özellikle biyofilm oluşturabilen farklı cins ve türlerdeki mikroorganizmaların insan, bitki ve hayvanlar üzerine patojen etkilerinin azaltılmasının (ya da önlenmesinin), gelecek yıllarda QS yıkımı ile gerçekleştirilebileceği düşünölmektedir (Dong ve Zhang, 2005; Defoirdt ve ark. 2013).

QS mekanizmasının engellenmek istendiği durumlardan biri de *Burkholderia* cinsine ait türlerin meydana getirdiği enfeksiyonlardır. Örneğin, *Burkholderia cepacia* kompleksi (Bcc), G-(-) bakterilerin oluşturduğu bir grup bakteri topluluğundan oluşmaktadır. Bcc türleri fırsatçı patojen mikroorganizmalar olup, bağışıklık sistemini baskılayıcı birçok enfeksiyona neden olarak, insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bu hastalıkların başında kistik fibrosis gelmektedir. Bcc türleri hem *in vivo* hem de *in vitro* koşullarda biyofilm oluşturabilmektedir. Kistik fibrosise neden olan türler arasında en önemlileri *Burkholderia multivorans* ve *Burkholderia cenocepacia* olarak bilinmektedir (Brackman ve ark. 2009). Tehlikeli bir patojen olan *Burkholderia cepacia* özelliikle, genetik olarak da yakınlığı olan ve bağışıklık sistemi zayıf çocuklarda kistik fibrosise neden olan fırsatçı bakteri grubu olarak adlandırılmakla birlikte, bitki patojeni olduğu da bilinmektedir. Soğan yüzeyine bulaştığı zaman hızla atağa geçer ve soğanın dış yüzeyini zedeler, iç katmanlara nüfus eder ve tekstürel yapıyı bozarak, hamur gibi yumuşak lapamsı ve bozulmuş bir yapıya dönüştürür. İlgili suşların özellikle pirinçte tohum kaynaklı enfeksiyonlara ve koyunlarda mastitis oluşmasına neden olduğu da bildirilmektedir. Bu özellikleri nedeni ile *Pseudomonas* ve *Staphylococcus aureus* semptomları ile de karıştırılabilmekte ve bu nedenle yanlış tedavi ve mikrobiyel gelişmeyi önleme yöntemleri uygulanabilmektedir (Tauxe, 2002). Doğada, su ve toprakta bulunabilen bu bakteri türleri

özellikle su kaynaklı olup, enfeksiyon yapabilmek için, ciğerlerde biyofilm tabakası oluşturarak kistik bir yapı halinde kendini koruma altına alır ve semptomlarının benzer olması nedeni ile de tüberküloz ile karıştırılabilir (Nandi ve Tan, 2013). Ayrıca *Burkholderia* türleri deride lezyonlara ve soluk borusu ve beyinde ise iltihaplara neden olabilmektedir (Anonim, 2014). Gram negatif bakterilerde ortamda birikerek biyofilm oluşumuna neden olan otoindükleyici moleküllerin, N-açıl homoserin ve oligopeptidler, virülens özellikleri ve patojeniteyi artırmakta olduğu bilinmekte olup, *Burkholderia* türlerinin enfeksiyona neden olmadan engellenebilmesi için, sinyal moleküllerinin ortamda birikmesini önleyebilecek iz-yollarının bulunması ve müdahale edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

QS mekanizmasını engellemeye yönelik bazı yöntemler aşağıda özetlenmiştir:

QS sinyaline benzer moleküler yapılar: Bazı yüksek bitki ve alglerde, gram negatif bakterilerin ürettiği sinyale benzer moleküller tespit edilmiştir. Bu durumda, bakterilerdeki sinyal reseptör proteinine bağlanabilen bu moleküller, reseptörün proteolitik degradasyonuna neden olarak, sinyal molekülü üretimini engellemektedir (Açıkgöz, 2012).

QQ enzimleri: Patojen mikroorganizmaların sinyal moleküllerinin azaltılması için bazı enzimlerin kullanılabilceği bildirilmektedir (Dong ve Zhang, 2005; Chen ve ark. 2013).

QQ mekanizmasındaki spesifik moleküller: Furanonlar, diketopiperazinler, azitromisin, haptenler ve bazı fitokimyasallar (hidrosinnamik asit, epikateşin vb.) ile sinyal molekülü sentezini baskıladıkları ve bu sayede de istenilen engellemenin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (Açıkgöz, 2012; Nazzaro ve ark. 2013).

Hormonlar: İnsanlarda bulunan bazı hormonların da mikroorganizmalar üzerine inhibisyon etkisi ve çoğunluk algılanmasını baskılayıcı durumlarının olduğu belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC)'nin çoğunluk algılanması mekanizmasının insan vücudunda sentezlenen hormonlar ile çapraz etkileşimi olduğu anlaşılmıştır (Açıkgöz, 2012).

Sonuç

Quorum sensing (çoğunluk algılanması) mekanizması, aynı mikroorganizma türü ya da farklı cins ve türler arasında iletişimin sağlanması ve olumsuz/olumlu şartlar altında toplu davranış şekli geliştirilerek, mikroorganizmaların her zamankinden farklı fenotipik özellikler göstermeleri ve canlı kalabilmek için daha dirençli hale gelmelerini sağlayacak bir sistem olarak bilinmektedir. Bu mekanizma sayesinde mikroorganizmalar iş birliği halinde kalmakta, ortama yaydıkları sinyal moleküllerinin yoğunluğuna göre enzimatik aktiviteleri düzenlenmekte, virülens özellikler ortaya çıkmakta ve planktonik formda iken sahip olmadıkları özellikler ile kendilerini ortam şartlarına karşı koruma altına alabilmektedirler. Gelişmesi istenilen yararlı mikroorganizmalar ve fermente gıda ürünlerinde bu mekanizmanın mikroorganizmalar arasında kullanılabilir olması, kültürün daha dayanıklı ve aktif olmasını sağlayarak avantajlı duruma getirmektedir. Ancak patojen ya da gıdalarda bozucu olan mikroorganizmaların insan sağlığını tehdit etmesinin önüne geçilebilmesi için, sinyal moleküllerinin ortama salgılanması ya da salgılandıktan sonra diğer mikroorganizmalar tarafından algılanmasının engellenmesi gerektiği sonucuna varılmaktadır. Çeşitli kimyasallar veya enzimatik aktivitelerin düzenlenmesi ile QS sistemi inaktive edilebilmekte ve dolayısıyla hem ekonomik kayıplar önlenilmekte, hem de

sağlık için olumsuz koşullar en az düzeye indirilebilmektedir. Mikroorganizmalar arası çoğunluk algılanmasında olumlu ve olumsuz tüm etkenler göz önüne alındığında, tıp alanında ve gıda endüstrisinde patojen ve gıdayı bozucu mikroorganizmaların inhibisyonunun sağlanması ve yeni antimikrobiyel maddelerin geliştirilebilmesi için mikroorganizmalara ait QS ve QQ mekanizmalarının iyi bilinmesi gerekmektedir. Bu sayede hem antibiyotik özellikle yeni ilaçlar üretilebilecek hem de gıda endüstrisinde, son ürünün raf ömrünün uzamasına, kaliteli bir gıda üretilmesine katkıda bulunmuş olacaktır. Bu bilgiler ışığında sonraki çalışmaların, daha çok moleküler düzeyde olması ve özellikle QQ mekanizmasını istenmeyen mikroorganizmalara karşı kullanabilmek için yararlı bakteriler üzerinde çalışılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Açıköz, E. 2012. Quorum quenching. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR. 10: 27-44.
- Ahmer, B. M. M. 2004. Cell-to-cell signalling in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. Molecular Microbiology. 52: 933-945.
- Annous, B.A., Fratamico, P.M. ve Smith, J.L. 2009. Quorum sensing in biofilms: why bacteria behave the way they do. Journal of Food Science. 74:24-37.
- Anonim 2014. Microbial fact sheets. Guidelines for drinking-water quality. http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_11.pdf (2014)
- Avcı, M.K. 2009. Quorum sensing odaklı yenilikler ve biyoteknolojik uygulamalar. file:///C:/Users/G%C3%B6k%C5%9Fen/Downloads/QUORUM_SENSNG_REVIEW__MURA_T_281209_2%20(1).pdf (2014)
- Bai, A.J. ve Rai, V.R. 2011. Bacterial quorum sensing and food industry. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 10: 184-194.
- Bassler, B.L. 1999. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. Current Opinion in Microbiology. 2:582-587.
- Beenken, K.E., Dunman, P.M., McAleese, D.M., Murphy, E., Projan, S.J., Blevins, J.S. ve Smeltzer, M.S. 2004. Global gene expression in *Staphylococcus aureus* biofilms. Journal of Bacteriology. 186: 4665-4684.
- Bjarnsholt, T., Alhede, M., Alhede, M., Eickhardt-Sørensen, S.R., Moser, C., Kühl, M., Jensen, P. Ø. ve Høiby, N. 2013. The *in vivo* biofilm. Trends in Microbiology. 21: 466-474.
- Blana, V.A. ve Nychas, G.J.E. 2014. Presence of quorum sensing signal molecules in minced beef stored under various temperature and packaging conditions. International Journal of Food Microbiology. 173:1-8.
- Brackman, G., Hillaert, U., Calenbergh, S.V., Nelis, H.J. ve Coenye, T. 2009. Use of quorum sensing inhibitors to interfere with biofilm formation and development in *Burkholderia multivorans* and *Burkholderia cenocepacia*. Research in Microbiology. 160: 144-151.
- Chae, M.S., Schraft, H., Hansen, L.T. ve Mackereth, R. 2006. Effects of physicochemical surface characteristics of *Listeria monocytogenes* strains on attachment to glass. Food Microbiology. 23: 250-259.
- Chen, F., Gao, Y., Chen, X., Yu, Z. ve Li, X. 2013. Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block quorum sensing-dependent infection. International Journal of Molecular Science. 14: 17477-17500.
- Cole, S.P., Harwood, J., Lee, R., She, R. ve Guiney, D.G. 2004. Characterization of monospecies biofilm formation by *Helicobacter pylori*. Journal of Bacteriology. 186: 3124-3132.
- Davey, M.E. ve O'Toole, G.A. 2000. Microbial Biofilms: from ecology to molecular genetics. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 64: 847-867.

- Defoidt, T., Brackman, G. ve Coenye, T. 2013. Quorum sensing inhibitors: how strong is the evidence?. *Trends in Microbiology*. 21: 619-624.
- DeLisa, M.P. ve Bentley, W.E. 2002. Bacterial autoinduction: looking outside the cell for new metabolic engineering targets. *Microbial Cell Factories*. 1: 1-9.
- Dong, Y.H., Xu, J.L., Li, X.Z. ve 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*. 97: 3526–3531.
- Dong, Y.H. ve Zhang, L.H. 2005. Quorum sensing and quorum quenching enzymes. *The Journal of Microbiology*. 43: 101-109.
- Fetzner, S. 2014. Quorum quenching enzymes. *Journal of Biotechnology*. 16: 1-13.
- Gram, L., Rayn, L., Rasch, M., Bruhn, J.B., Christensen, A.B. ve Givskov, M. 2002. Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 78: 79-97.
- Gün, İ. ve Ekinci, F.Y. 2009. Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *GIDA*. 34: 165-173.
- Karaboz, İ. ve Sukatar, A. 2004. Bakterilerde sosyal davranışlar (bakterilerde iletişim mekanizmaları). *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*. 2: 23-32.
- Myszka, K. ve Czaczyk, K. 2011. Bacterial biofilms on food contact surfaces – A Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 61: 173-180.
- Nandi, T. ve Tan, P. 2013. Less is more: *Burkholderia pseudomallei* and chronic melioidosis. *mBio*. 4: 709-713.
- Nazzaro, F., Fratianni, F. ve Coppola, R. 2013. Quorum sensing and phytochemicals. *International Journal of Molecular Science*. 14, 12607-12619.
- Oppenheimer-Shaanan, Y., Steinberg, N., ve Kolodkin-Gal, I. 2013. Small molecules are natural triggers for the disassembly of biofilms. *Trends in Microbiology*. 21: 594-601.
- Park, H., Yeo, S., Ji, Y., Lee, J., Yang, J., Park, S., Shin, H. ve Holzapfel, W. 2014. Autoinducer-2 associated inhibition by *Lactobacillus sakei* NR28 reduces virulence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control*. 45: 62-69.
- Song, X.N., Chneg, Y.Y., Li, W.W., Li, B.B., Sheng, G.P., Fang, C.Y., Wang, Y.K., Li, X.Y. ve Yu, H.Q. 2014. Quorum quenching is responsible for the underestimated quorum sensing effects in biological wastewater treatment reactors. *Bioresource Technology*. 171: 472–476.
- Tauxe, R.V. 2002. Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. 78: 31–41.
- Ulrich, R.L. 2004. Quorum quenching: enzymatic disruption of N-acylhomoserine lactone-mediated bacterial communication in *Burkholderia thailandensis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 70: 6173–6180.
- Uludağ Altun, H. ve Şener, B. 2008. Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 39:82-88.
- Yun, B., Oh, S. ve Griffiths, M.W. 2014. *Lactobacillus acidophilus* modulates the virulence of *Clostridium difficile*. *Journal of Dairy Science*. 97: 4745–4758.