

UDK 619 (05)

ISSN 1840-2887 Штампа-Print

ISSN 2303-4475 Online

ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ



Veterinary Journal of Republic of Srpska

Волумен/Volumen XXII, бр./No 1-2, стр./page 01-209, Бања Лука/Ванја Лука, 2022



**„Једно здравље“ за бољу будућност!
„One Health“ for a better future!**

UDK 619 (05)

ISSN 1840-2887 – Штампа-Print

ISSN 2303-4475 - Online

ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

VETERINARY JOURNAL OF REPUBLIC OF SRPSKA

Научни часопис - Scientific journal

Ветеринарски журнал Републике Српске, Вол. 22, број 1-2, стр. 1-209, Бања Лука, 2022
Veterinary Journal of Republic of Srpska, Vol. XXII, No 1-2, page 1-209, Banja Luka, 2022

ИЗДАВАЧ – PUBLISHER:

ЈУ ВЕТЕРИНАРСКИ ИНСТИТУТ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ „Др Васо Бутозан“ БАЊА ЛУКА
PI VETERINARY INSTITUTE REPUBLIC OF SRPSKA „Dr. Vaso Butozan“ BANJA LUKA

СУИЗДАВАЧ – CO-PUBLISHER:

ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ, УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ, СРБИЈА
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE, UNIVERSITY OF BELGRADE, SERBIA

ГЛАВНИ УРЕДНИК – EDITOR IN CHIEF:

Проф.др Драго Н. Недић, Prof.dr. Drago N. Nedic (БиХ-РС, В&Н-RS)

МЕЂУНАРОДНИ УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР – INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD:

Др Милорад Мириловић, Dr Milorad Mirilović, PhD, (Србија-Serbia)
Др Жељко Цветнић, Dr Željko Cvetnić, PhD, (Хрватска-Croatia)
Др Андреј Кирбиш, Dr Andrej Kirbiš, PhD (Словенија-Slovenia)
Др Нихад Фејзић, Dr Nihad Fejzić, PhD, (БиХ, В&Н)
Др Лазо Пендовски, Dr Lazo Pendovski, PhD, (Северна Македонија, North Macedonia)
Др Жељко Сладојевић, Dr Željko Sladojević, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Јанко Иванов, Dr Yanko Ivanov, PhD (Бугарска, Bulgaria)
Др Предраг Слијепчевић, Dr Predrag Slijepčević, PhD (Велика Британија-United Kingdom)
Др Нектариос Д. Гиадинис, Dr Nektarios D. Giadinis (Грчка, Greece)
Др Мајкл Гилсдорф, Dr Michael Gilsdorf, PhD (САД-United State of America)
Др Семир Лончаревић, Dr Semir Lončarević, PhD (Шведска-Sverige)
Др Миломир Ковач, Dr Milomir Kovač, PhD, (Руска Федерација, Россијска Федерација)
Др Неђељко Карабасил, Dr Nedjeljko Karabasil, PhD, (Србија-Serbia)
Др Милан Балтић, Dr Milan Baltić, PhD, (Србија-Serbia)
Др Смиљана Параш, Dr Smiljana Paraš, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Весна Калаба, Dr Vesna Kalaba, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Драган Касагић, Dr Dragan Kasagić, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Виолета Сантрач, Dr Violeta Santrač, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)

ТЕХНИЧКИ УРЕДНИК: -TECHNICAL EDITOR: др Бојан Голић, dr Bojan Golić (БиХ-РС, В&Н-RS)

ЛЕКТОР - ЛЕКТОР: Маја Martinović

Преводилац на енглески/Translator in English: Проф. Нивес Јаковљевић, Prof. Nives Jakovljević

РЕЦЕНЗИЈА: Часопис се упућује на двоструку рецензију еминентним стручњацима. The journal is referred to a dual review by eminent experts.

ГОДИШЊЕ СЕ ОБЈАВЉУЈЕ 2 БРОЈА ЧАСОПИСА (јун/децембар или двоброј крајем године)

2 ISSUES OF MAGAZINES ARE PUBLISHED ANNUALLY (June / December or double issue at the end of the year)

Часопис је бесплатан и објављује се у електронској верзији и штампа у 300 примјерака. The magazine is free and is published in an electronic version and printed in 300 copies.

На основу Мишљења Министарства науке и технологије Републике Српске часопис је ослобођен пореза на промет. Based on the Opinion of the Ministry of Science and Technology of the Republic of Srpska, the magazine is exempt from sales tax.

Штампа: Штампарија Alfa studio Gradiška; **Press:** Alfa studio, Gradiška

78000 Бања Лука, Бранка Радичевића 18; 78000 Banja Luka, Branka Radičevića 18,

Тел: 051/229-210, Е-mail: drago.nedic@virs-vb.com,

<http://virs-vb.com/veterinarski-zurnal-rs/> <http://doisrpska.nub.rs/index.php/VJRS>

Обим и политика часописа

Ветеринарски журнал Републике Српске је покренут 2001. године како би истраживачи код нас, у региону и широм свијета могли да објављују своја истраживања и радове. Часопис је посвећен унапређењу и ширењу научних сазнања о ветеринарским наукама и сродним академским дисциплинама. Ветеринарски журнал Републике Српске је отвореног приступа, рецензирани научни часопис ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске ”Др Васо Бутозан” Бања Лука, Република Српска/БиХ, посвећен објављивању оригиналних научних радова, прегледних научних радова, кратких саопштења и приказа случаја. Ветеринарски журнал Републике Српске објављује се на једном од језика у службеној употреби у Босни и Херцеговини и енглеском језику, у годишњим волуменима који се састоје од два броја, на моделу *Open Access* који омогућава високу видљивост радова. Ветеринарски журнал Републике Српске је индексиран као национални часопис. Сваки рукопис биће обрађен од стране два рецензента који пружају квалитетну уредничку обраду. Упутства за пријављивање рукописа, припрему рада, процедуру рецензије и све остале детаље доступна су на страницама часописа. Ова страница ће ауторе упутити корак по корак кроз процес пријављивање (Упутство за ауторе). Ветеринарски журнал Републике Српске је часопис отвореног приступа. Сви радови могу се бесплатно преузети и користити у складу са *Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)*.

Scope and Policy of the Journal

Veterinary Journal of Republic of Srpska was launched in 2001 to offer researchers and professionals in the region and worldwide a place to publish their research findings and work. The Journal is devoted to the advancement and dissemination of scientific knowledge concerning veterinary sciences and related academic disciplines. *Veterinary Journal of Republic of Srpska* is an open access, peer-reviewed scientific journal published by the PI Veterinary Institute Republic of Srpska „Dr. Vaso Butozan“ Banja Luka, Republic of Srpska/B&H, and dedicated to the publication of original scientific paper, review scientific paper, short communications, case report. *Veterinary Journal of Republic of Srpska* is published in one of the languages in official use in Bosnia and Herzegovina and English, in yearly volumes comprising two issues, on an Open Access model which allows high visibility of articles. *Veterinary Journal of Republic of Srpska* is indexed as a national journal. Each manuscript will be handled by two reviewers providing quality editorial processing. The instructions for manuscript submission, paper preparing, peer-review procedure and all other details are available on the Journal homepage. This site will guide Authors stepwise through the submission process (Author Guidelines).

Veterinary Journal of Republic of Srpska is an Open Access Journal. All articles can be downloaded free of charge and used in accordance with the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).

САДРЖАЈ / CONTENTS

	Стр./pp.
QUORUM SENSING У МИКРОБИОЛОГИЈИ ХРАНЕ <i>Снежана Булајић, Тијана Ледина, Јасна Ђорђевић</i>	5-17
QUORUM SENSING IN FOOD MICROBIOLOGY <i>Snežana Bulajić, Tijana Ledina, Jasna Đorđević</i>	18-30
ДЕКЛАРИСАЊЕ МЕСА– МИШЉЕЊЕ И ПОВЕРЕЊЕ ПОТРОШАЧА <i>Јелена Јањић, Милан Ж. Балтић, Мирјана Ловреновић, Славен Грбић, Драго Недић, Споменка Ђурић, Бранислав Вејновић, Лазо Пендовски, Милорад Мириловић</i>	31-43
MEAT DECLARATION – CONSUMER OPINION AND CONFIDENCE <i>Jelena Janjić, Milan Ž. Baltić, Mirjana Lovrenović, Slaven Grbić, Drago Nedić, Spomenka Đurić, Branislav Vejnović, Lazo Pendovski, Milorad Mirilović</i>	44-56
МИКРОБИОЛОШКА ИСПРАВНОСТ I ФИЗИКАЛНО-КЕМИЈСКИ ПАРАМЕТРИ КВАЛИТЕТА КОЗЈИХ I ОВЉИХ СИРЕВА ИЗ ХЕРЦЕГОВИНЕ <i>Ана Сесар, Маја Дрмаћ, Виктор Ландека, Бојан Голић</i>	57-67
MICROBIOLOGICAL SAFETY AND PHYSICOCHEMICAL QUALITY PARAMETERS OF GOAT AND SHEEP CHEESE FROM HERZEGOVINA <i>Ana Sesar, Maja Drmać, Viktor Landeka, Bojan Golić</i>	58-79
QUORUM ANALIZA KVALITETA SEKSIRANOG SEMENA BIKOVA КОМПЈУТЕРСКИ АСИСТИРАНОМ АНАЛИЗОМ SEMENA-CASA <i>Слободанка Ваканјак, Горан Пантић, Љубомир Јовановић, Владимир Магаš, Данијела Кировски</i>	80-89
ANALYSIS OF THE QUALITY OF SEXED BULL SEMEN BY COMPUTER-ASSISTED SEMEN ANALYSIS-CASA <i>Slobodanka Vakanjac, Goran Pantić, Ljubomir Jovanović, Vladimir Magaš, Danijela Kirovski</i>	90-100
АНТИХЕЛМИНТИЧКИ ПОТЕНЦИЈАЛ ЕТАРСКОГ УЛЈА КОРИЈАНДЕРА (CORIANDRUM SATIVUM L.) КОД ОВАЦА <i>Филип Штрбац, Антонио Боско, Коста Петровић, Драгича Стојановић, Радомир Ратајак, Наташа Симић, Дејан Орчић, Ђиузеппе Криноли, Лаура Риналди</i>	101-113
АНТИХЕЛМИНТИЧКИ ПОТЕНЦИЈАЛ КОРИЈАНДЕРА (CORIANDRUM SATIVUM L.) У ОВЦАМА <i>Filip Štrbac, Antonio Bosco, Kosta Petrović, Dragica Stojanović, Radimir Ratajac, Nataša Simin, Dejan Orčić, Giuseppe Cringoli, Laura Rinaldi</i>	114-126
КРИПТОРХИЗАМ КОД ПАСА <i>Јован Спасојевић, Иван Галић, Бојан Тохолј, Иван Станчић, Сандра Никوليћ, Ивана Давидов, Тијана Кукурић, Ненад Поповић</i>	127-141
CRYPTORCHIDISM IN DOGS <i>Jovan Spasojević, Ivan Galić, Bojan Toholj, Ivan Stančić, Sandra Nikolić, Ivana Davidov, Tijana Kukurić, Nenad Popović</i>	142-155

	Стр./pp.
ЗНАЧАЈ САРАДЊЕ ЛЕКАРА И ВЕТЕРИНАРА У КОНЦЕПТУ ЈЕДНО ЗДРАВЉЕ	156-166
<i>Бранислава Белић, Марко Цинцовић, Николина Новаков, Марија Јефтић, Драгана Димитријевић, Бобан Ђурић</i>	
IMPORTANCE OF COLLABORATION BETWEEN PHYSICIANS AND VETERINARIANS IN ONE HEALTH CONCEPT	167-177
<i>Branislava Belić, Marko Cincović, Nikolina Novakov, Marija Jeftić, Dragana Dimitrijević, Boban Đurić</i>	
АКТИВНОСТ СЕЛЕНОЕНЗИМА GP _x -1 И GP _x -3 У КРВИ РАДНИХ КОЊА НА ТЕРИТОРИЈИ ЦЕНТРАЛНЕ СРБИЈЕ	178-185
<i>Оливера Валчић, Петар Милосављевић, Иван Јовановић, Светлана Милановић</i>	
ACTIVITY OF SELENENZYMES GP _x -1 AND GP _x -3 IN THE BLOOD OF WORKING HORSES IN THE TERRITORY OF CENTRAL SERBIA	186-193
<i>Olivera Valčić, Petar Milosavljević, Ivan Jovanović, Svetlana Milanović</i>	
УПУТСТВО АУТОРИМА И РЕЦЕНЗЕНТИМА	194-201
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS AND REVIEWERS	202-209



DOI 10.7251/VETJSR2201005B

UDK 006.4:[663/664:658.562

Прегледни научни рад

QUORUM SENSING У МИКРОБИОЛОГИЈИ ХРАНЕ

Снежана БУЛАЈИЋ, Тијана ЛЕДИНА, Јасна ЂОРЂЕВИЋ*

Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине, Београд, Србија

*Коресподентни аутор: Јасна Ђорђевић, jasna.djordjevic@vet.bg.ac.rs

Сажетак

Последњих неколико деценија, наша перцепција о бактеријама и њиховим заједницама значајно се променила. У прошла времена преовладавало је мишљење да заједнице бактерија представљају популацију ћелија које делују индивидуално. Данас је добро документована чињеница да механизам међућелијске комуникације, познат као „*quorum sensing*“, има важну улогу у контролисању различитих целуларних процеса бактерија као што су биолуминисценција, вируленција, толеранција на дезинфицијенсе, спорулација, покретљивост, стварање биофилма и антимикробна резистенција.

Разумевање система међућелијске комуникације даје могућност контроле раста непожељних бактерија у матриксу хране и развоја нове стратегије у обезбеђивању квалитета и безбедности хране.

Кључне речи: quorum sensing, квалитет и безбедност хране.

УВОД

„*Quorum sensing*“ (QS), термин успостављен од стране Fuqua и Winans (1994), представља универзални механизам којим бактерије препознају промене у окружењу. Препознајући новонастале промене, микробни свет има могућност да правовремено реагује, развијањем специфичне одбрамбене стратегије у циљу адаптације на неповољне услове у простору и кроз време. На овај начин, чином социјализације (удруживања) у моменту када густина популације достигне критични ниво, бактерије синхронизују своје понашање и тиме оптимизују шансе за преживљавање у компетитивним нишама.

Бројне грам-негативне и грам-позитивне врсте бактерија су способне да своје активности прилагоде друштвеном добру и координишу колективно понашање у оквиру мултимикробне заједнице. Механизам удруженог

битисања подразумева синтетисање ниско молекуларних сигналних молекула. Бактерије (ћелије „емитери“), континуирано генеришу сигнал, на почетку раста у ниској концентрацији, а потом, како се, временом, густина популације повећава, сигнал се акумулира. Једном, када концентрација сигнала достигне критични ниво, што бактерије перципирају као остварен „кворум“, сигнал реагује са рецепторским протеином ћелије „респондера“, и кроз координисану експресију одређених гена покреће се јединствени, заједнички одговор заједнице у циљу преживљавања.

Процеси контролисани од стране „*quorum sensing*“ система укључују биолуминисценцију, спорулацију, компетенцију, продукцију антимикуробних пептида, стварање биофилма, антимикуробну резистенцију, секрецију фактора вируленције, стварање токсина, трансфер коњугативних плазида, као и продукцију ензима чија се активност доводи у везу са кваром хране (Smith и сар., 2004; Zhao и сар., 2020; Wang и Xie, 2020).

Врсте сигналних молекула

У основи, „*quorum sensing*“ систем подразумева производњу и читавање екстрацелуларних сигнала. Сигнали су хемијске природе, сигнални молекули, тзв. аутоиндуктори. Често, мада не и увек, гени који су одговорни за синтезу сигналних молекула и одговор на исте, активирају властиту експресију, чиме се објашњава назив аутоиндуктор. Према Amtoг и сар. (2008), идентификовани сигнални молекули се деле у 4 категорије:

1. Н-ацил хомосерин лактони (АХЛ), деривати масних киселина, генерички названи аутоиндуктори 1 (АИ-1); продукују их и користе грам-негативне бактерије углавном за комуникацију унутар врсте. Интрацелуларна акумулација довољне концентрације АХЛ покреће активацију транскрипције различитих промотера унутар бактеријског генома. Неколико фактора као што су температура, рН, садржај NaCl, састав медијума за раст и фаза раста могу утицати на количину продуктованих АХЛ. Продукција Ц4-хомосерин лактона од стране *Aeromonas hydrophila* 519 зависи од температуре раста, концентрације глукозе и соли, као и рН вредности медијума за култивацију (Medina-Martinez и сар., 2006). Исти аутори утврђују да при базној рН вредности, АХЛ постају нестабилни и подлежу хидролизи. Уласком бактерија у стационарну фазу, смањује се количина АХЛ (Ravn и сар., 2001). Примери фенотипова регулисаних од стране АХЛ укључују продукцију антимикуробних пептида, антимикуробну резистенцију, формирање биофилма, статус компетенције за преузимање ДНК, диференцијацију ћелија, биолуминисценцију, раст,

- трансфер плазида, експресију фактора вируленције, као и продукцију различитих екстрацелуларних ензима.
2. фураносил борат диестер, познат као аутоиндуктор 2 (АИ-2); стварају их грам-негативне али и грам-позитивне бактерије и тиме служи као универзални сигнал за комуникацију унутар и између врста; одговоран за модулацију неколико фенотипских измена, као што су експресија фактора вируленције, нивои АБЦ транспортера код *Salmonella Typhimurium*, продукција протеаза, транскрипција бројних гена код *Escherichia coli*, биолуминисценција код *Vibrio* spp. Продукција АИ-2, као и у случају АИ-1, условљена је температуром и формулацијом медијума за раст, као и променама у интрацелуларном метаболизму и деловањем стресора.
 3. аутоиндуктор 3 (АИ-3) представља сигнал за гене вируленције ентерохеморагичне *Escherichia coli* (ЕХЕЦ); продукција овог аутоиндуктора утврђена је и код интестиналне микробиоте људи што имплицира могућу улогу у комуникацији између врста.
 4. аутоиндуковани пептиди (АИП) које продукују и користе грам-позитивне бактерије. АИП се синтетишу на рибозомима као прекурзор пептиди, трансформишу се у активни пептид и бивају експортирани ван ћелије деловањем АБЦ транспортера у АТП-зависном процесу. Ови пептиди се карактеришу малом молекулском масом (5-26 аминокиселинских резидуа), високом стабилношћу, специфичношћу и диверзитетом. Сигнал ових пептида се обично читава на површини ћелија путем сензора хистидин киназе, када аутофосфорилација киназе покреће уједно и фосфорилацију регулатор протеина, што, у крајњем исходу доводи до транскрипције одговарајућих гена. Примери фенотипова модулираних активношћу аутоиндукованих пептида укључују генетичку компетенцију и спорулацију код *Bacillus subtilis* и *Streptococcus pneumoniae*, вируленцију код *Enterococcus faecalis*, као и продукцију антимикробних састојака као што су низин (*Lactococcus lactis*) и субтилизин (*Bacillus subtilis*). Ипак, типичан пример АИП посредованог QS механизма је *agr* систем код *Staphylococcus aureus* (Abisado и сар., 2018) и *Listeria monocytogenes*. *Staphylococcus aureus* представља коменсалну микробиоту људи, али испољава и патогена својства по продору у ткиво домаћина. Механизам патогености стафилокока подразумева бифазичну стратегију: при ниској густини популације стафилококе врше експресију протеина који промовишу адхеренцију на мукозне површине и колонизацију, док се при високој
-

концентрацији популације, ова својства гасе, а иницира се секреција токсина и протеаза, што поспешује дисеминацију стафилокока. Овај „switch“ у експресији гена је регулисан *agr* QS механизмом.

У новије време, описане су и друге врсте сигналних молекула, као што су колера аутоиндуктор 1, дикетопиперазини, 4–хидрокси-2-алкилквинолини дифузибилни сигнални фактори (Wang и Xie, 2020), различити метаболички продукти као што су индол, кратколанчане масне киселине, секундарне жучне киселине (Buffie и сар., 2015).

***Quorum sensing* у контексту микробне екологије**

У највећем броју случајева, досадашња испитивања QS механизма односила су се на проучавање молекуларног аспекта међућелијске комуникације, односно како QS утиче на вируленцију, спорулацију или коњугацију. Далеко мање се сагледавао еколошки концепт приче у средишту кога лежи главно питање – зашто уопште бактерије продукују сигналне молекуле, руководећи се притом основном еколошком парадигмом – све је са свим осталим у вези, али и како детерминанте еколошке нише утичу на комуникацију, посебно у случају када нишу представљају комплексни екосистеми хране. Иако се продукција сигналних молекула (АИ-1, АИ-2) доводи у везу са одређеним члановима микробиоте хране (*Pseudomonas* врсте, припадници фамилије *Enterobacteriaceae*, бактерије млечне киселине), веома мало се зна о утицају процесних параметара и услова складиштења на квалитет и квантитет ових сигнала у храни. Познато је да доминација једне групе бактерија у континууму производње и прераде хране представља резултат сложеног процеса микробне сукцесије, када специфична популација захваљујући својим имплицитним карактеристикама и усвајањем специфичне стратегије стиче нумеричку супериорност у ниши која се успоставља као интерплеј физикохемијских карактеристика матрикса хране и услова складиштења. Матрикс хране у већини случајева подразумева асоцијацију микробних ћелија са солидним супстратом, те су ћелије имобилизоване и локализоване у појединим микросрединама у високој концентрацији, а раст је присутан у виду микроколонија или биофилмова. На различитим местима унутар матрикса хране присутне су варијације у нивоу кисеоника, активности воде, храњивих материја и рН вредности. На основу интеракције свих ових фактора матрикс хране је представљен кроз серију међуповезаних микросредина, од којих поједине могу да фаворизују раст бактерија. Динамика раста и активност бактерија присутних у храни, било да се ради о узрочницима квара, патогеним бактеријама или корисној микробиоти

одређена је, великим делом, *in situ* међућелијским еколошким интеракцијама. Из овог разлога, еколошки приступ је неопходан у сагледавању међућелијске комуникације у различитим екосистемима хране. Врло вероватно, сагледавање еколошке димензије QS механизма дало би одговоре на следећа важна питања:

- Која је то критична концентрација QS сигнала потребна како би бактерије препознале кворум и покренуле експресију гена?
- Да ли услед динамичких (абиотичних) услова постоји концентрацијски градијент или хемијска деградација сигнала?
- Да ли је у генерисању и читавању QS сигнала просторна дистрибуција ћелија важнија од густина популације?
- Да ли је могуће да друге врсте или сојеви бактерија, који коегзистирају у истој ниши деактивирају и/или продукују исти аутоиндуктор?

***Quorum sensing* у микробиологији хране**

Међућелијска комуникација привлачи пажњу микробиолога хране услед доказа о повезаности QS и квара хране (Ammog и сар., 2008; Skandamis и сар., 2009; Galié и сар., 2018) и чињенице да су из матрикса покварене хране изоловане различите сигналне молекуле (Blana и Nychas, 2014), али и значаја QS у патогенези бактерија (Li и сар., 2018). Поред тога, неоспорна је улога QS у формирању биофилма у процесном окружењу (Galié и сар., 2018).

***Quorum sensing* и квар хране**

Квар хране животињског порекла углавном се доводи у везу са активношћу грам-негативних протеолитичних психротрофних бактерија, већином *Pseudomonas* spp., и родова фамилије *Enterobacteriaceae*, односно бактерија млечне киселине уколико се храна чува у условима модификоване атмосфере. Поред тога, активност хидролаза, углавном фосфолипаза пореклом грам-позитивних аеробних *Bacillus* spp. одговорна је за квар млека и производа од млека.

Pseudomonas spp. представљају доминантну микробиоту аеробно пакованог охлађеног меса, достижући ниво од 10^9 CFU/g у случају квара меса (Liu и сар., 2006). Јау и сар. (2003) утврђују повезаност QS и квара меса условљеног активношћу *Pseudomonas* spp., *Hafnia alvei* и *Serratia* spp., као доминантне психротрофне врсте *Enterobacteriaceae* фамилије изоловане из поквареног меса пакованог у вакууму и идентификују се као значајни продуценти АХЛ. Велики број АХЛ утврђује се у охлађеном говеђем и живинском месу чуваном у аеробним условима, у ситуацији када се бележи

висока концентрација *Pseudomonadaceae* (10^8 - 10^9 CFU/g) и *Enterobacteriaceae* (10^3 - 10^4 CFU/g), уз значајну протеолитичку активност (Liu и сар., 2006).

Yuan и сар. (2018) претпостављају улогу QS механизма током раста и метаболичке активности *Pseudomonas fluorescens*, честог узрочника квара млека и производа од млека, а услед способности дотичне врсте да синтетише АХЛ и екстрацелуларне протеазе. Већина (84,5%) сојева психротрофне протеолитичне микробиоте изоловане из сировог млека карактерише се продукцијом АХЛ (Pinto и сар., 2007). Иако се *Pseudomonadaceae* и *Enterobacteriaceae* не могу изоловати из пастеризованог и стерилизованог млека, утврђена преваленција АХЛ указује да АХЛ продуковани од стране иницијалне микробиоте сировог млека, по спроведеном термичком третману, задржавају у потпуности, или барем делом, своју активност. Продукција алкалне металопротеазе код соја *Pseudomonas fluorescens* 395, који поседује изразиту протеолитичку активност, регулисана је QS системом (Liu и сар., 2007). Продукција екстрацелуларних липолитичких и протеолитичких ензима од стране *Serratia proteamaculans* сој В5а контролисана је од стране QS система (Christensen и сар., 2003).

***Quorum sensing* и формирање биофилма**

Биофилм представља комплексни екосистем једне или више врста бактерија уроњених у екстрацелуларни полимерни матрикс. Развија се по обрасцима вишећелијског понашања и у коначном облику функционише као кооперативни конзорцијум бактерија на сложен, али усклађен начин. Овакав сесилни начин живота пружа бројне предности придруженим члановима – већа отпорност на стресне услове средине, неосетљивост на антимикуробна средства и средства за санитацију и дезинфекцију, што онемогућава ерадикацију биофилма из процесног окружења. Додатно, микробна заједница биофилма показује примитивну хомеостазу, примитивни циркулаторни систем, измену генетичког материјала и принцип метаболичке кооперације.

Први корак у формирању биофилма подразумева кондиционирање површине материјала и реверзибилно везивање ћелија за исти материјал. Потом, везивање постаје иреверзибилно и формирају се микроколоније. Коначно, филм поприма тродимензионалну структуру и комплексни екосистем је спреман за дисперзију. Индустрија млека, услед специфичности сировог супстрата (флуид) и разноликости технолошких процеса (различити температурни профили), пружа бројне могућности за колонизацију

биофилма. Танкови за сирово млеко, цевоводи, центрифуге, дупликатори за сир, проточни плочасти измењивачи топлоте и машине за паковање представљају примере тзв. површинских супстрата на којима се идеално угнезде биофилмови. Од посебног су значаја будући да представљају непрекидни, понављајући извор контаминације, што у крајњем случају нарушава квалитет и микробиолошки интегритет финалног производа.

QS систем је укључен у све фазе формирања биофилма: регулација густине популације, синхронизација метаболичке активности, тако да активност одговара нутритивним захтевима, али и расположивости храњивог супстрата. Поред тога, бактерије - резиденти биофилма, показују значајно различити геном/транскрипциони програм у поређењу са слободно живућим планктонским ћелијама.

Улога QS система у формирању биофилма у највећем броју случајева испитивана је код грам-негативних бактерија, где ацилирани хомосерин лактони (АХЛ) делују као сигналне молекуле. У ситуацији када концентрација АХЛ достигне критични ниво, АХЛ се везују на рецептор молекуле и формирани комплекс, као одговор на стресне услове средине, покреће експресију и секрецију фактора вируленције, екстрацелуларних протеаза, формирање биофилма, као и друге физиолошке функције (Li и сар., 2018).

In vitro студије показују да се *Salmonella* spp. лако приљубљују на радне површине и формирају биофилм (Coughlan и сар., 2016). *Salmonella* spp. и *E. coli* немају *luxI* ген који кодира АХЛ синтетазу и стога немају могућност синтезе АХЛ. Међутим, ови микроорганизми поседују LuxR хомолог, SdiA, који детектује сигнал продукован од других бактеријских врста. Присуство малих концентрација АХЛ продукованих од стране других бактерија, индукује формирање биофилма код *E. coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium и *Vibrio* spp. (Jamuna Bai и Ravishankar Rai, 2016). Silagyi и сар. (2009) утврђују да АИ2 посредује у формирању биофилма *E. coli*, где активирани QS систем уједно учествује и у регулисању хемотаксе, синтези флагела и експресији гена одговорних за покретљивост.

Присуство Ц12 ХСЛ, једног од АХЛ сигнала, утиче на формирање биофилма *Salmonella* Enteritidis и промовише експресије фактора вируленције у анаеробним условима (Almeida и сар., 2017). Lamas и сар. (2016) утврђују везу између формирања биофилма од стране *S. enterica* и експресије QS-повезаних гена. Код *Campylobacter jejuni* синтеза АИ-2 игра главну улогу у формирању биофилма (Bezek и сар., 2016). Формирање биофилма код *Vibrio* spp. зависи од неколико кључних ензима, укључених у биосинтезу флагела, пила и полисахарида, као и регулатора протеина који

контролишу експресију истих гена (Giaouris и сар., 2015). *Vibrio cholerae*, *V. vulnificus* и *V. parahaemolyticus* присутни су у контаминираној храни и води, посебно плодовима мора, где формирају густо паковане биофилмове, што представља кључни фактор њиховог преживљавања у окружењу (Galić и сар., 2018). QS систем контролише формирање биофилмова и код грам-позитивних патогених бактерија преносивих храном: *L. monocytogenes*, *Clostridium perfringens* и *B. cereus* (Coughlan и сар., 2016). *L. monocytogenes* формира биофилмове на абиотичним површинама у заједници са другим бактеријама, као што су *Pseudomonas* spp. и *E. coli* (Giaouris и сар., 2015). Утврђено је да лактоза индукује стварање биофилма код *B. cereus*, на начин да повећава продукцију АИ-2 молекула (Duanis-Assaf и сар., 2015). Агг QS систем код *S. aureus* разликују се од других QS система будући да је доказано да експресија Агг доводи до down-регулације гена одговорних за адхезију бактерија. Тиме експресија Агг смањује адхезиони потенцијал бактерија и индиректно утиче на смањени капацитет формирања биофилма.

Инхибиција QS система

Како се QS систем ослања на стварање и пренос малих сигналних молекула међу бактеријама, реално је очекивати да се исте молекуле (АИ) могу искористити у контроли раста и преживљавања бактерија, као и у модулацији њиховог профила вируленције. Инхибиција QS система, механизам познат као „Quorum Quenching“ (QQ), представља нову стратегију у контроли специфичних фенотипова бактерија (биолуминисценција, формирање биофилма, вирулентност, ефекат ројења). Постоји неколико могућих начина инхибиције QS система:

1. Инхибиција АХЛ синтезе,
2. Деградација АХЛ сигнала активношћу ензима (АХЛ-ацилаза и АХЛ-лактоназа)
3. Интерференција са рецепторима или блокирање комплекса АХЛ/рецептор (Lade и сар., 2014).
4. Пост-транскрипциона контрола QS ензима путем сРНК.

Природни (изоловани из различитих извора) и синтетички QS инхибитори интензивно се проучавају. Велики потенцијал показују екстракти различитог биља. Метанолни екстракт лишћа манга смањује продукцију протеазе, еластазе, пиоцијанина, као и егзополисахарида, те ефекат ројења и формирање биофилма код *Pseudomonas aeruginosa* (Husain и сар., 2017). У раду истих аутора, у екстракту лишћа манга идентификовано је више од 14 састојака, укључујући трифлуорометилкетоне и фенотијазине, са могућим

анти-QS деловањем, и то инхибицијом „*efflux*“ пумпи, мада је врло вероватно да делују на више циљних места.

Чајеви, поготово полифеноли екстраховани из лишћа чајева представљају традиционални извор природних компоненти, које се, у новије време, интензивно тестирају као могући анти-QS агенси. Епигалокатехин галат, најзаступљенији полифенолни метаболит антиоксидант из зеленог чаја показује снажни инхибиторни ефекат у односу на експресију гена (стварање биофилма, и покретљивост) регулисаних од стране QS система *E. coli* (Lee и сар., 2009). Зачини, као што су црни бибер, бели лук, ким и цимет показују обећавајуће резултате као анти-биофилм агенси.

Воће, као што су брусница, јагода и купина, садрже између осталих састојака и феноле, киноне, флавоноиде, алкалоиде, терпеноиде и полиацетилене, који су се показали успешним као анти-QS агенси, на основу интерференције са АХЛ синтезом, инхибиције продукције АИ-2 (Bezdek и сар., 2016) или down-регулације QS-повезаних гена.

Кверцетин (присутан у воћу, поврћу, орасима и житарицама) показује значајну редукцију QS-зависних фенотипова појединих патогених бактерија преносивих храном (*P. aeruginosa*, *Y. enterocolitica* и *K. pneumoniae*), посебно формирање биофилмова, продукцију егзополисахарида и покретљивост (Gori и сар., 2015). Поврће и житарице као што су пиринач, парадајз, соја, лук и броколи такође продукују супстанце које опонашају активност АХЛ сигнала (Jakobsen и сар., 2012).

Есенцијална уља су се показала као добри инхибитори формирања биофилма, пре свега меганизмом деградације АХЛ сигнала или инхибицијом АХЛ синтезе.

Као алтернативни извори инхибитора QS система наводе се биоактивне компоненте пореклом од бактерија, будући да је сасвим извесно да су бактерије усвојиле овај механизам како би обезбедиле компетитивну предност у нишама у којима опстају. У овом смислу посебно су интересантни чланови микробиоте земљишта, за које је потврђено да продукују ензиме (АХЛ-лактоназе и АХЛ- ацилазе) способне да разграде QS молекуле, али и многи тзв. -оцини, као што су бактериоцини, лактоцини, ентероцини и низин (Choуam и сар., 2019).

Пчелињи производи се такође препознају као значајан извор молекула са анти-QS механизмом деловања, посебно прополис (Bulman и сар., 2011) и мед (Maddocks и Jenkins, 2013).

Једно од могућих решења у „гашењу“ QS система јесте и примена параоксоназа, ензима изолованих из серума сисара, гљивица и различитих

биљака. Ови ензими блокирају QS систем на основу хидролизе лактонског прстена Н-ацил хомосерин лактона (АХЛ) (Galić и сар., 2018).

ЗАКЉУЧАК

QS систем регулише експресију гена одговорних за кодирање многих виталних функција, које омогућавају преживљавање бактерија у неповољним условима средине. У настојању да се QS систем стави под контролу, идентификовани су бројни антагонисти сигналних молекула. Важно је да микробиолози хране имају свест о важности, али уједно и разумеју QS систем, будући да стратегије које „гасе“ механизам читавања кворума у популацији бактерија представљају ефикасно оруђе за контролу раста непожељних бактерија у храни.

Захвалница

Рад је подржан средствима Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Уговор број 451-03-68/2022-14/200143).

Изјава о сукобу интереса: Аутори изјављују да не постоји сукоб интереса.

ЛИТЕРАТУРА

- Abisado R. G., Benomar S., Klaus J. R., Dandekar A. A., Chandler J. R. (2018): Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. *mBio*, 9(3):e02331-17.
- Almeida F. A., Pimentel-Filho N. J., Pinto U. M., Mantovani H. C., Oliveira L. L., Vanetti M. C. (2017): Acyl homoserine lactone-based quorum sensing stimulates biofilm formation by *Salmonella* Enteritidis in anaerobic conditions. *Archives of Microbiology*, 199(3):475-486.
- Ammor M. S., Michaelidis C., Nychas G. J. E. (2008): Insights into the Role of Quorum Sensing in Food Spoilage. *Journal of Food Protection*, 71(7):1510-1525.
- Bezek K., Kurincic M., Knauder E., Klancnik A., Raspor P., Bucar F., Smole Mozina S. (2016): Attenuation of adhesion, biofilm formation and quorum sensing of *Campylobacter jejuni* by *Euodia ruticarpa*. *Phytotherapy Research*, 30(9):1527-1532.
- Blana V. A., 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(3):1-8.
- Buffie C. G., Bucci V., Stein R. R., McKenney P. T., Ling L., Gobourne A., No D., Liu H., Kinnebrew M., Viale A., Littmann E., van den Brink M. R. M., Jenq R. R., Taur Y., Sander C., Cross J. R., Toussant N. C., Xavier J. B.,

- Pamer E. G. (2015): Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature*, 517(7533):205-8.
- Bulman Z., Le P., Hudson A. O., Savka M. A. (2011): A novel property of propolis (bee glue): Anti-pathogenic activity by inhibition of N-acyl-homoserine lactone mediated signaling in bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 138(3):788-797.
- Choyam S., Srivastava A. K., Shin J. H., Kammara R. (2019): Ocins for food safety. *Frontiers in Microbiology*, 10:1736.
- Christensen A. B., Riedel K., Eberl L., Flodgaard L. R., Molin S., Gram L., Givskov M. (2003): Quorum-sensing-directed protein expression in *Serratia proteamaculans* B5a. *Microbiology*, 149(Pt 2):471-483.
- Coughlan L. M., Cotter P. D., Hill C., Alvarez-Ordóñez A. (2016): New weapons to fight old enemies: Novel strategies for the (bio)control of bacterial biofilms in the food industry. *Frontiers in Microbiology*, 7:1641.
- Duanis-Assaf D., Steinberg D., Chai Y., Shemesh M. (2015): The LuxS based quorum sensing governs lactose induced biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Frontiers in Microbiology*, 6:1517.
- Fuqua W. C., Winans S. C. (1994): A LuxR-LuxI type regulatory system activates *Agrobacterium* Ti plasmid conjugal transfer in the presence of a plant tumor metabolite. *Journal of Bacteriology*, 176:2796-2806.
- Galié S., García-Gutiérrez C., Miguélez E. M., Villar C. J., Lombó F. (2018): Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9:898.
- Giaouris E., Heir E., Desvaux M., Hebraud M., Moretro T., Langsrud S., Doulgeraki A., Nychas G. J., Kačaniova M., Czaczyk K., Olmez H., Simoes M. (2015): Intra- and inter-species interactions within biofilms of important foodborne bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 6:841.
- Gopu V., Meena C. K., Shetty P. H. (2015): Quercetin influences quorum sensing in food borne bacteria: In-vitro and in-silico evidence. *PLoS One*, 10(8):e0134684.
- Husain F. M., Ahmad I., Al-Thubiani A. S., Abulreesh H. H., AlHazza I. M., Aqil F. (2017): Leaf extracts of *Mangifera indica* L. inhibit quorum sensing - regulated production of virulence factors and biofilm in test bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8:727.
- Jakobsen T. H., Bragason S. K., Phipps R. K., Christensen L. D., van Gennip M., Alhede M., Skindersoe M., Ostensfeldt Larsen T., Hoiby N., Bjarnsholt T., Givskov M. (2012): Food as a source for quorum sensing inhibitors: Iberin from horseradish revealed as a quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(7):2410-2421.
-

- Jamuna Bai A., Ravishankar Rai V. (2016): Effect of small chain N acyl homoserine lactone quorum sensing signals on biofilms of food-borne pathogens. *Journal of Food Science and Technology*, 53(9):3609-3614.
- Jay J. M., Vilai J. P., Hughes M. E. (2003): Profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5–7 degrees C. *International Journal of Food Microbiology*, 81(2):105-11.
- Lade H., Paul D., Kweon J. H. (2014): Quorum quenching mediated approaches for control of membrane biofouling. *International Journal of Biological Sciences*, 10(5):550-565.
- Lamas A., Miranda J. M., Vazquez B., Cepeda A., Franco C. M. (2016): Biofilm formation, phenotypic production of cellulose and gene expression in *Salmonella enterica* decrease under anaerobic conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 238:63-67.
- Lee K. M., Kim W. S., Lim J., Nam S., Youn M., Nam S. W., Kim Y., Kim S. H., Park W., Park S. (2009): Antipathogenic properties of green tea polyphenol epigallocatechin gallate at concentrations below the MIC against enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*, 72(2):325-331.
- Li T., Mei Y., He B., Sun X., Li J. (2018): Reducing quorum sensing mediated virulence factors expression and biofilm formation in *Hafnia alvei* by using the potential quorum sensing inhibitor l-carvone. *Frontiers in Microbiology*, 9:3324.
- Liu M., Gray J. M., Griffiths M. W. (2006): Occurrence of proteolytic activity and N-acyl-homoserine lactone signals in the spoilage of aerobically chill-stored proteinaceous raw foods. *Journal of Food Protection*, 69(11):2729-2737.
- Liu M., Wang H., Griffiths M. W. (2007): Regulation of alkaline metalloprotease promoter by N-acyl homoserine lactone quorum sensing in *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6):2174-2184.
- Maddocks S. E., Jenkins R. E. (2013): Honey: A sweet solution to the growing problem of antimicrobial resistance? *Future Microbiology*, 8(11):1419-1429.
- Medina-Martinez M.S., Uyttendaele M., Demolder V., Debevere J. (2006): Influence of food system conditions on N-acyl-L-homoserine lactones production by *Aeromonas* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 112(3):244-252.
- Pinto U. M., de Souza Viana E., Martins M. L., Vanetti M. C. D. J. F. C. (2007): Detection of acylated homoserine lactones in gram-negative proteolytic psychro-trophic bacteria isolated from cooled raw milk. *Food Control*, 18(10):1322-1327.
-

- Ravn L., Christensen A. B., Molin S., Givskov M., Gram L. (2001): Methods for detecting acylated homoserine lactones produced by gram-negative bacteria and their application in studies of AHL-production kinetics. *Journal of Microbiology Methods*, 44(3):239-251.
- Silagyi K., Kim S. H., Lo Y. M., Wei C. I. (2009): Production of biofilm and quorum sensing by *Escherichia coli* O157:H7 and its transfer from contact surfaces to meat, poultry, ready-to-eat deli, and produce products. *Food Microbiology*, 26(5):514-519.
- Skandamis P. N., Stopforth J. D., Ashton L. V., Geornaras I., Kendall P. A., Sofos J. N. (2009): *Escherichia coli* O157:H7 survival, biofilm formation and acid tolerance under simulated slaughter plant moist and dry conditions. *Food Microbiology*, 26(1):112-19.
- Smith J. L., Fratamico P. M., Novak J. S. (2004): Quorum sensing: a primer for food microbiologists. *Journal of Food Protection*, 67(5):1053-70.
- Wang X. Y., Xie J. (2020): Quorum Sensing System-Regulated Proteins Affect the Spoilage Potential of Co-cultured *Acinetobacter johnsonii* and *Pseudomonas fluorescens* From Spoiled Bigeye Tuna (*Thunnus obesus*) as Determined by Proteomic Analysis. *Frontiers in Microbiology*, 11:940.
- Yuan L., Sadiq F. A., Burmolle M., Liu T., He G. (2018): Insights into bacterial milk spoilage with particular emphasis on the roles of heat-stable enzymes, biofilms, and quorum sensing. *Journal of Food Protection*, 81(10):1651-1660.
- Zhao X., Yu Z., Ding T. (2020): Quorum-Sensing Regulation of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *Microorganisms*, 8(3):425.

Рад примљен: 13.05.2022.

Рад прихваћен: 25.07.2022.
