



MECANISMOS DE QUORUM SENSING E SUA RELEVÂNCIA NA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

Marília Cristina Sola^{1*}; Aline Pedrosa de Oliveira¹; Janaína Costa Feistel²; Cíntia Silva Minafra e Rezende³

¹Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia, Goiás, Brasil

²Mestranda, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia, Goiás, Brasil

³Docente, Doutora, UFG, Escola de Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia, Goiás, Brasil

*Endereço para correspondência: mcsllilla@yahoo.com.br

Recebido em: 04/05/2012 – Aprovado em: 15/06/2012 – Publicado em: 30/06/2012

RESUMO

Quorum sensing caracteriza-se por um sistema de comunicação intra e interespecies de microrganismos, baseado na emissão de estímulos e respostas dependentes da densidade populacional. Este tipo de interação reflete o comportamento dos microrganismos, demonstrando a capacidade de habitar ambientes diversos, captar as informações de seu meio, comunicar-se com diferentes espécies, monitorar sua densidade populacional e principalmente regular a sua expressão gênica, controlando processos celulares como a esporulação, formação de biofilmes, expressão de fatores de virulência, produção de bacteriocinas e antibióticos e a bioluminescência. Acredita-se também que este sistema de comunicação celular desempenhe funções importantes na ecologia microbiana de alimentos, tanto na deterioração destes produtos quanto na multiplicação de patógenos e produção de toxinas.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias deteriorantes; Comunicação celular; Doenças veiculadas por alimentos; Patógenos alimentares.

MECHANISMS OF QUORUM SENSING AND THE IMPORTANCE IN FOOD MICROBIOLOGY

ABSTRACT

Quorum sensing is characterized by a system of intra and interspecies communication of microorganisms, based on the emission of stimuli and responses dependent on population density. This type of interaction reflects the behavior of microorganisms, demonstrating the ability to inhabit different environments, capturing the information of their environment, communicate with different species, monitor their population density and mainly regulate their gene expression by controlling cellular processes such as sporulation, biofilm formation, expression of virulence factors, production of bacteriocins and antibiotics and bioluminescence. It is also believed that cellular communication system play important roles in the microbial

ecology of foods, both in the deterioration of these products on the multiplication of pathogens and toxins.

KEYWORDS: Spoilage bacteria; Cell communication; Foodborne diseases; Food pathogens

1 INTRODUÇÃO

Por muitos anos, os pesquisadores acreditaram que as bactérias existiam como células individuais, viviam em busca de nutrientes, agiam como populações de células independentes e se multiplicavam quando em condições favoráveis. Hoje, admite-se que as bactérias não se comportam como células individuais e solitárias, mas sim como microrganismos coloniais que exploram sistemas elaborados sendo capazes de captar informações originadas por plantas e por outras bactérias, indicando assim a existência de uma interação e comunicação entre células (WHITEHEAD et al., 2001; BAI & RAI, 2011).

Esta linguagem ou mecanismos de percepção e resposta empregados pelas bactérias, denominado *quorum sensing*, caracteriza-se pela liberação de sinais químicos secretados a partir de células, capazes de induzir diversas alterações como a regulação da expressão de genes dependentes da densidade celular (MILLER & BASSLER, 2001; KELLER & SURETTE, 2006).

Este sistema de sinalização, já foi identificado em muitos gêneros bacterianos e se baseia na capacidade destes agentes em monitorar a presença de outras bactérias ao seu redor, pela produção e resposta a moléculas sinalizadoras, conhecidas como autoindutores. Estas pequenas moléculas são detectadas por receptores específicos e permitem que as células avaliem o tamanho da população através da concentração de sinais. Quando esta sinalização atinge o nível crítico, os microrganismos passam a agir como um único organismo multicelular, sendo capaz de organizar respostas unificadas favoráveis a sobrevivência da população (FUQUA et al., 2001; RUMJANEK et al., 2004; PINTO, 2005; AMMOR et al., 2008).

Estudos atuais, sobre a comunicação entre microrganismos, buscam elucidar os mecanismos de interação entre procariotos e eucariotos, formação de biofilmes, produção de bacteriocinas, fatores de virulência de patógenos de plantas e animais, biossíntese de antibióticos e, também na relação do *quorum sensing* e sua importância para a microbiologia de alimentos, envolvendo os microrganismos patogênicos e os deteriorantes (PINTO et al., 2007; AMMOR et al., 2008; ESPER, 2010).

Diante das evidências sobre o mecanismo de comunicação célula-célula, acredita-se que o *quorum sensing* esteja presente nos processos que envolvem a deterioração de alimentos e até mesmo no controle de patógenos alimentares. Visto isso, faz-se necessário conhecer as possíveis alterações envolvendo este mecanismo de comunicação celular, assim como a ecologia microbiana de produtos alimentícios, e a possível inibição do *quorum sensing*, buscando a interferência na multiplicação de comunidades bacterianas, como biofilmes, redução do processo de deterioração de produtos e principalmente o bloqueio na multiplicação de patógenos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Quorum sensing*

Quorum sensing pode ser definido como um mecanismo de comunicação entre bactérias, através da produção e difusão de pequenas moléculas químicas ou sinalizadoras, através de membranas bacterianas. Este sistema de linguagem permite a coordenação do comportamento bacteriano em relação ao meio ambiente,

regulando a expressão de genes especializados, em resposta à densidade populacional, além da intervenção em diversos processos fisiológicos como a diferenciação celular e fluxo de nutrientes, a bioluminescência, indução de fatores de virulência em patógenos de plantas e animais, biossíntese de antibióticos e a formação de biofilmes (SCHAUDER & BASSLER, 2001; RUMJANEK et al., 2004; AMMOR et al., 2008; BAI & RAI, 2011).

Apesar dos diferentes sistemas de comunicação existentes entre as bactérias, observa-se que a sinalização dependente da densidade celular pode ser considerada um comportamento comum entre microrganismos. Nestes sistemas, a regulação encontra-se mediada pelo acúmulo de uma ou mais moléculas sinalizadoras produzidas pelas células e excretadas para o meio externo, pelo simples processo de difusão. Estas pequenas moléculas químicas ou autoindutoras (AI) acumulam-se no ambiente em quantidades proporcionais ao crescimento celular e são detectadas pelos indivíduos por meio de receptores, somente quando, no ambiente externo, perpassa a concentração crítica. A partir deste limite atingido, ocorre a percepção da alta densidade celular pela população, iniciando ações conjuntas com a ativação ou repressão de genes determinados, como por exemplo, os envolvidos na virulência, regulação do crescimento de colônias e produção de antibióticos pelas cepas (MILLER & BASSLER, 2001; WHITEHEAD et al., 2001, RUMJANEK et al., 2004, PINTO et al., 2007).

2.2. Histórico

O primeiro estudo envolvendo o *quorum sensing* teve início no final da década de 60, devido à observação de características peculiares da bactéria marinha *Vibrio fischeri*. Notou-se que esta espécie Gram negativa, é uma bactéria simbiote, capaz de habitar órgãos luminosos e intestinos de lulas, peixes e outros animais marinhos e principalmente proporcionar luminescência ao seu hospedeiro eucarioto (ANTUNES, 2003; AMMOR et al., 2008; TRUCHADO et al., 2009).

Cientistas observaram que a simbiose entre a bactéria *V. fischeri* e a lula *Euprymna scolopes* garantia uma bioluminescência ao organismo, sendo capaz de auxiliar na camuflagem ou na atração de presas e em troca, oferecer os nutrientes necessários para o crescimento bacteriano (LERAT & MORAN, 2004; PINTO et al., 2007).

Naquele ambiente marítimo, em noites claras, onde a Lua é a única fonte de luz disponível, os predadores podem detectar com facilidade as sombras de suas presas se movimentando a frente da luz. Desta forma, mediante a colonização das bactérias e a consequente produção de luz nos órgãos dos hospedeiros, a luminosidade acaba por mascarar a sombra, confundindo assim os predadores e evitando o ataque (LERAT & MORAN, 2004; SMITH et al., 2004; PINTO et al., 2007).

WHITEHEAD et al. (2001) e LERAT & MORAN (2004), após alguns anos de estudos, observaram que as bactérias não só eram capazes de produzir luz, mas também que essa luminosidade só era emitida quando um grande número de bactérias se acumulavam no ambiente. Porém hoje, já se sabe que a emissão de luz é dependente da transcrição do *operon luciferase*, que só ocorre mediante a alta densidade populacional e o consequente acúmulo de moléculas sinalizadoras no ambiente. No momento em que se atinge a concentração limiar crítica destas moléculas, ocorre a ligação do autoindutor com a proteína receptora e este complexo resultante ativa a transcrição dos genes alvo por meio da ligação ao operon da luciferase em uma região chamada *box lux* (RUMJANEK et al., 2004).

Vale destacar que o mecanismo de autoindução com a produção de luminescência só é observado na colonização da bactéria *Vibrio fischeri* em órgãos de animais hospedeiros, não ocorrendo emissão de luz quando em vida livre. Considerando a evolução dos organismos, compreende-se a necessidade de um rígido controle das bactérias sobre a síntese da bioluminescência, uma vez que este mecanismo é altamente consumidor de energia, ocorrendo somente em simbiose (WHITEHEAD et al., 2001; RUMJANEK et al., 2004; VIANA, 2006).

2.3 Modelos de *Quorum sensing*

As bactérias Gram positivas e Gram negativas apresentam sistemas de comunicação diferenciados para regular as diversas funções fisiológicas. Em geral, as bactérias Gram positivas usam oligopeptídeos para se comunicar e as bactérias Gram negativas usam como autoindutores as acil-homoserina lactonas (AHLs – um anel de homoserina lactona que, através de uma ligação amida, liga-se a um grupamento acil, que varia conforme a espécie bacteriana considerada) (WINZER et al., 2002; SMITH et al., 2004; AMMOR et al., 2008).

O sistema de sinalização através de autoindutores tem como princípio a ligação das moléculas sinalizadoras, quando em concentrações elevadas, à moléculas receptoras ou sensoras, presentes na superfície ou no interior das bactérias. Estas moléculas sensoras ou “proteínas R” atuam como reguladores transcricionais, sendo capazes de regular a expressão de genes determinados. Cada uma das proteínas R corresponde a receptores específicos, sendo ativados apenas quando estimulados pelas moléculas sinalizadoras. Apesar da existência de moléculas autoindutoras ou sinalizadoras inespecíficas e uma provável ligação entre elas e a proteína R, o fenômeno de autoindução não ocorre nestes casos, visto que esta conexão por ser fraca ou inexistente não é capaz de ativar a regulação da expressão de genes (SCHAUDER & BASSLER, 2001; RUMJANEK et al., 2004; PAIVA, 2011).

As moléculas sinalizadoras envolvidas no mecanismo *quorum sensing* em bactérias podem ser agrupadas em quatro categorias ou modelos:

- a) Autoindutor -1 (AI -1): moléculas derivadas de ácidos graxos, sendo muito utilizadas por bactérias Gram negativas no mecanismo de comunicação intraespécies. Neste grupo, as moléculas autoindutoras possuem estrutura de N- acil homoserinas lactonas (AHLs) (MILLER & BASSLER, 2001; WHITEHEAD et al., 2001);
- b) Autoindutor-2 (AI-2): Furanosil borato diéster, produzido por bactérias Gram negativas e Gram positivas para a comunicação intra e interespcies (SCHAUDER & BASSLER, 2001; CHEN et al., 2002);
- c) Autoindutor-3 (AI-3): Estrutura ainda desconhecida, já descrita na presença de *Escherichia coli* O157:H7 (SPERANDIO et al., 2003; PAIVA, 2011);
- d) Aminoácidos e pequenos peptídeos utilizados por bactérias Gram positivas na comunicação intraespécies (MILLER & BASSLER, 2001; WHITEHEAD et al., 2001).

Apesar da grande quantidade de microrganismos que possuem sistemas de *quorum sensing*, observa-se que a maioria apresenta como similaridade a sinalização dependente da densidade populacional. BAI & RAI (2011) verificaram a descrição de pelo menos quatro mecanismos principais envolvendo o *quorum sensing*, porém vários outros sistemas de sinalização podem ocorrer, como é o caso do *Vibrio cholerae* que possui, pelo menos, três sistemas de QS que funcionam em

paralelo e são capazes de regular a expressão de genes de virulência (MILLER & BASSLER, 2001). Além desses, dipeptídeos cíclicos, como dicetopiperazinas (DKPs) e 2-heptil-3-hidroxi-4-quinolona (PQS), podem estar envolvidos na sinalização célula-célula (MILLER & BASSLER, 2001; ZHU et al., 2002; SMITH et al., 2004; AMMOR et al., 2008).

Considerando as moléculas sinalizadoras já descritas, verifica-se três classes bem definidas e que estão envolvidas no mecanismo de linguagem de bactérias: AHLs (autoindutor tipo 1), oligopeptídeos e a classe *LuxS*/autoindutor-2 (AI-2) (KELLER & SURETTE, 2006; VIANA, 2006).

MILLER & BASSLER (2001) reconheceram dois tipos de mecanismos de comunicação: o intraespécie e o interespecies. O mecanismo de comunicação intraespécie ocorre principalmente em bactérias Gram negativas, sendo mediado pelos autoindutores tipo 1 (AI-1) que são as *N*-acil-homoserina lactonas (AHLs) derivadas de precursores de ácidos graxos e aminoácidos (FUQUA et al., 2001; MILLER & BASSLER, 2001; WHITEHEAD et al., 2001; PONCE, 2007).

As acil-homoserinas lactonas -AHLs- são as moléculas sinalizadoras do sistema *quorum sensing* com melhor caracterização. Considerando a atuação em bactérias Gram negativas, já foram identificados mais de 12 derivados de AHLs, contendo modificações no comprimento ou substituição da cadeia acil (WHITEHEAD et al., 2001; PONCE, 2007). Já em bactérias Gram positivas, o mecanismo intraespécie não é mediado por AHLs e sim por pequenos peptídeos sintetizados pela própria célula e encaminhados para o meio externo (MILLER & BASSLER, 2001; ANTUNES, 2003; PONCE, 2007; SCHERTZE et al., 2009).

O sistema que tem a participação do autoindutor AI-1 já foi bem descrito, visto a participação de genes que possuem homologia com *LuxI* e *LuxR*, bastante estudados no mecanismo de bioluminescência em *V. fischeri* (RUMJANEK et al., 2004). O gene *LuxI* sintetiza as moléculas de *N*-acil-homoserina lactonas (AHLs) denominadas AI-1, e o *LuxR*, um fator de transcrição, é responsável por controlar a expressão gênica na presença da molécula autoindutora (SMITH et al., 2004; AMMOR et al., 2008; BAI & RAI, 2011).

O outro tipo de sistema que envolve a comunicação intra e interespecies utiliza moléculas de furanosil borato diéster (AI-2) e uma molécula diéster não boratada (vAI-2) (SPERANDIO et al., 2003). As moléculas sinalizadoras do tipo 2 (AI-2) tem sido encontradas em diversas espécies bacterianas, sendo por isso consideradas como um sinal de comunicação universal entre diferentes espécies (WINZER et al., 2002; VIANA, 2006).

A síntese do autoindutor do tipo 2 (AI-2) ocorre a partir de uma *S*-adenosilmetionina (SAM) e a enzima *LuxS* que participa da clivagem de *S*-ribosil homocisteína, formando dois produtos, uma homocisteína e AI-2. Já a molécula SAM, atua como precursor comum na síntese das *N*-acil-homoserina lactonas (AI-1) e de AI-2 (SCHAUDER & BASSLER, 2001; FUQUA & GREENBERG., 2002; PAIVA, 2011).

Pesquisas revelam que o sistema dependente da participação do autoindutor AI-2 já foi identificado em mais de 285 espécies de bactérias, principalmente *Salmonella enterica*, *E. coli*, *Vibrio cholerae* e *Yersinia* sp e que a regulação deste sistema atua de forma complexa, tendo a modulação dos autoindutores, sob influencia ambiental (AHMER, 2004; RUMJANEK et al., 2004; AMMOR et al., 2008).

É provável que os dois sistemas envolvidos no mecanismo de comunicação celular atendam necessidades diferentes para as bactérias, pois, enquanto o sistema capta informações sobre a presença de indivíduos da mesma espécie sob

uma população mista, proporcionando uma avaliação da densidade populacional, a simples presença de um segundo sinal é capaz de detectar a presença de outras espécies, informando sobre o percentual da sua espécie em relação aos outros microrganismos. Desta forma, percebe-se a existência de uma modulação comportamental de uma determinada espécie frente às variações populacionais do seu habitat, permitindo avaliar as possibilidades de sobrevivência e multiplicação (FUQUA et al., 2001; RUMJANEK et al., 2004).

Considerando os três sistemas de comunicação celular envolvendo bactérias Gram negativas, o sistema AI-3 é o menos compreendido. A descrição inicial foi de um composto aromático, com estruturas ainda não determinadas, encontrado em meios pré-condicionados, sendo capaz de controlar a expressão dos genes de virulência em *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). Alguns estudos demonstram semelhança entre o autoindutor AI-3 e os hormônios epinefrina e norepinefrina, devido ao reconhecimento destes três compostos pelo receptor QseC e diante destas suposições, SPERANDIO et al. (2003) verificaram em seu estudo, o envolvimento do autoindutor 3 (AI-3) na comunicação cruzada entre a bactéria *Escherichia coli* O157:H7 e o hormônio epinefrina do sistema sinalizador da célula do hospedeiro.

CLARKE et al. (2006) afirmam que a detecção das moléculas autoindutoras AI-3 é realizada por um sistema duplo formado por um sensor quinase QseC, e um regulador da resposta, QseB. Na presença da molécula AI-3, o sensor QseC se autofosforila e posteriormente transfere seu fosfato para o regulador QseB. Em seguida, ocorre ativação de uma cascata de sinais levando a transcrição de genes, como os genes de virulência em EHEC. RASKO et al. (2008) relatam a presença de receptores homólogos de QseC em pelo menos 25 patógenos importantes para humanos e vegetais.

Enquanto as bactérias Gram negativas têm como vocabulário as acil-homoserina lactonas (AHLs), a linguagem das bactérias Gram positivas é através de pequenos peptídeos. Esses peptídeos são sintetizados pela própria célula e, após modificações, são transportados para o meio externo. No momento em que a concentração dessas moléculas atinge um limite crítico, dependente da densidade celular, dois componentes passam a detectar uma quinase, presente na membrana da célula. Esta molécula é capaz de reconhecer o peptídeo e transferir esse sinal para o meio interno, fosforilando o próximo componente, uma proteína que atua como um regulador de resposta, que se liga ao DNA, e regula assim a expressão dos genes alvo (MILLER & BASSLER, 2001; WITHERS et al., 2001; READING & SPERANDIO, 2006).

Enquanto alguns dos peptídeos envolvidos no *quorum sensing* de bactérias Gram positivas são transportados para o interior das células por meio de permeases de oligopeptídeos, podendo interagir com receptores intracelulares, outros apenas interagem com os sensores de quinases ligados à membrana. Considerando os diferentes processos envolvidos neste sistema de comunicação celular, destaca-se a regulação de virulência em *Staphylococcus aureus*, competência para aquisição de DNA em *Bacillus subtilis* e *Streptococcus pneumoniae*, esporulação em *B. subtilis*, transferência de plasmídeo por conjugação em *Enterococcus faecalis*, e produção de bacteriocina em bactérias lácticas (RUMJANEK et al., 2004).

2.4 Fenótipos regulados pelo *Quorum sensing*

O mecanismo de comunicação celular desempenha uma função central na fisiologia e no desenvolvimento de organismos vivos, destacando-se o comportamento em grupo de bactérias, mediante a capacidade de coordenação de atividades de forma semelhante às entidades multicelulares (SCHAUDER & BASSLER, 2001; PONCE, 2007).

RUMJANEK et al. (2004) consideraram que o comportamento coletivo pode ser vantajoso para as bactérias. Analisando o processo de migração de microrganismos para ambientes mais satisfatórios devido à melhor oferta de nutrientes e, a adoção de novos modelos de crescimento, tais como, esporulação ou formação de biofilmes, verifica-se que estas alterações acabam por propiciar melhores condições ao agente e conseqüentemente proteção contra efeitos deletérios do ambiente.

Inúmeros estudos afirmaram que o sistema *quorum sensing* está envolvido na regulação de uma série de fenótipos, incluindo a bioluminescência, produção de antibióticos, formação de biofilmes, mecanismos de diferenciação celular, motilidade em superfícies, crescimento, esporulação, produção de pigmentos, transferência de plasmídeos, produção de enzimas hidrolíticas extracelulares, produção de bacteriocinas, toxinas e expressão de genes de virulência (SMITH et al., 2004; AMMOR et al., 2008; BAI & RAI, 2011).

Os biofilmes caracterizam-se por comunidades ou agregados microbianos imobilizados em uma matriz rica em substâncias extracelulares de origem bacteriana, conferindo proteção a ambientes hostis e garantia de acesso a nutrientes necessários a sobrevivência. A formação de biofilmes é dependente do sistema *quorum sensing*, sendo um exemplo relevante de adaptação, onde as bactérias que o integram, se multiplicam, e se tornam parte da comunidade sésil em uma matriz de exopolissacarídeos, evidenciando uma formação cíclica e dinâmica (SMITH et al., 2004).

Pesquisas revelam que a regulação da maturação e da dissolução de biofilmes pode ser regulada pelo *quorum sensing*, porém poucos conseguem evidenciar a relação do mecanismo e a etapa inicial de formação do biofilme (DAVIES et al., 1998; PARSEK et al., 2005). HUBER et al. (2001) ao realizarem uma análise quantitativa detalhada coordenando o processo de maturação do biofilme. Além disso, observaram que a motilidade de *B. cepacia*, é regulada pelo mecanismo de *quorum sensing* e este possivelmente interfira na produção de biossurfactante e polissacarídeos que auxiliariam seu avanço ao longo da superfície. de estruturas de biofilmes formados por estirpes selvagens e mutantes de *Burkholderia cepacia* e *Pseudomonas aeruginosa* verificaram que o sistema *quorum sensing* não está envolvido na regulação da adesão celular inicial, mas é capaz de controlar as etapas subsequentes,

Em contrapartida, SPERANDIO et al. (2003) ao observarem a importância do autoindutor-2 (furanosil borato diéster) como sinal regulatório em *E. coli* O157:H7 e sua atuação na regulação de mais de 400 genes, como os de quimiotaxia e síntese de flagelo e motilidade, destacaram uma possível relação do *quorum sensing* com a etapa inicial de formação do biofilme.

Baseando-se nas vantagens conferidas pelo sistema de comunicação celular e ao comportamento coletivo das bactérias, McCULLOCH (2006) revelou em seu estudo que a formação de biofilme e a adesão de cepas de *Staphylococcus aureus* ao plástico acabaram por conferir proteção às bactérias na presença de vancomicina, pois a concentração do antimicrobiano que atingiu as células aderidas

foi significativamente menor do que a que atingiu as células soltas. Isto se deve ao fato de que o agrupamento de células possui uma superfície exposta relativamente menor do que as células isoladas, e a possibilidade de uma proteção conferida por uma barreira celular que poderia impedir a penetração do antimicrobiano.

Como o tratamento de infecções por *S. aureus* tem sido problemático, principalmente em âmbito hospitalar, verificou-se neste estudo que as células aderentes formadoras de biofilmes podem se associar a catéteres, válvulas e outros materiais como suporte, caracterizando-se o risco sobre o uso prolongado e indevido deste antibiótico e a formação de biofilme (McCULLOCH, 2006).

Estudos envolvendo a síntese de antibióticos por *Pseudomonas fluorescens*, identificaram que dois genes possivelmente envolvidos na regulação da biossíntese do antibiótico mupirocina, *mupR* e *mupI*, cuja sequência de aminoácidos codificados teria similaridade com proteínas *LasR/LuxR* e *LasI/LuxI*, estariam envolvidos no sistema *quorum sensing*. A inativação desses genes, por deleção, confirmou a necessidade de ambos para a síntese deste antibiótico (EL SAYED et al., 2001). KHAN et al. (2005) observando a síntese de fenazina pelo mesmo agente, notaram que o operon *phz*, precedido por dois genes, *phzR* e *phzI*, são similares aos genes da família *LuxR/LuxI* e que a consequente deleção de *phzR* e *phzI* levaria em ausência de produção de fenazina, além de moléculas autoindutoras como as AHLs que incluem quatro derivados 3-oxo-hidroxi AHL (OHHL) e dois derivados alcanoil-AHL.

Chromobacterium violaceum, é uma bactéria, Gram negativa, anaeróbia facultativa, que vive em amostras de solo e água de regiões tropicais e subtropicais em diversos continentes. Este microrganismo está relacionado com a produção de metabólitos secundários como pigmentos indólicos derivados de triptofano, como a violaceína e desoxiviolaceína (BLOSSER & GRAY, 2000; MARTINELLI et al., 2004).

McCLEAN et al. (1997) evidenciaram que extratos da cultura de *C. violaceum* apresentando pigmentos como a violaceína e desoxiviolaceína conferiram atividades biológicas relevantes, como efeitos antitumorais e antibióticos. Posteriormente, outras pesquisas evidenciaram que a produção de violaceína poderia ser controlada pelo mecanismo de comunicação celular *quorum sensing*, onde sua produção seria induzida pela molécula sinal, N-hexanoil homoserina lactona (HHL), em condições proporcionais à densidade populacional e o ambiente (BLOSSER & GRAY, 2000; MARTINELLI et al., 2004).

Diante da importância biológica dos metabólitos produzidos por *C. violaceum*, alguns estudos observaram as atividades antibióticas dos extratos pigmentados de culturas de *C. violaceum* e de violaceína purificada. Embora os resultados tenham demonstrado que a violaceína tenha atividade antibiótica relevante, verificou-se que os extratos brutos não purificados apresentam maior eficácia, entretanto, devido à baixa produtividade dos extratos ou pigmentos em meios complexos, torna-se difícil o estudo e a comprovação destas atividades biológicas (BLOSSER & GRAY, 2000; BRAZILIAN NATIONAL GENOMA PROJECT CONSORTIUM, 2003; MARTINELLI et al., 2004).

Em consonância aos achados descritos, PITLOVANCIV et al. (2006) propuseram a avaliação *in vitro* do crescimento celular bem como da produção dos pigmentos violaceína e desoxiviolaceína em meio líquido com a presença da bactéria *Chromobacterium violaceum*. Os resultados deste trabalho mostraram que a produção de violaceína é dependente da fonte de carbono utilizada, sendo desfavorecida em ambientes contendo glicose e frutose como únicas fontes de carbono, porém estimulada em presença de glicerol. Além disso, observou-se maior

produtividade de pigmento em meio sólido, contendo glicerol. Como conclusão, os autores verificaram a possibilidade de se estabelecer uma condição de cultivo optando-se tanto pela otimização da produção de pigmentos, obtendo-se quantidades suficientes para isolamento, caracterização e utilização dos compostos isolados, quanto na obtenção de moléculas precursoras para o desenvolvimento de derivados com atividades farmacológicas interessantes.

GUIMARÃES et al. (2010) em sua revisão sobre a produção de antibióticos, relataram que as novas estratégias referentes à pesquisa em produtos naturais microbianos com foco na busca por substâncias presentes em microrganismos ainda pouco explorados, estão em consonância com os diversos mecanismos de comunicação celular. Suas aplicações podem acelerar o processo de descoberta de novos antibióticos, conferindo extrema importância no atual cenário de resistência bacteriana aos agentes terapêuticos disponíveis no mercado.

As bacteriocinas são proteínas biologicamente ativas ou peptídeos com propriedades antibacterianas, variando quanto ao espectro de atividade, modo de ação, peso molecular, origem genética e propriedades bioquímicas, além de se caracterizar como um agente conservador natural, capaz de inibir a atividade de diversos microrganismos de grande importância em alimentos, inclusive os patogênicos como *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Yersinia enterocolitica* (NASCIMENTO et al., 2008).

A nisina foi a primeira bacteriocina produzida por uma bactéria láctica - *Lactococcus lactis*, tendo sido descoberta a partir da observação do metabolismo de uma linhagem especial, durante experimento realizado na Inglaterra em 1928. É considerada como um ótimo agente conservador inibindo a multiplicação de vários tipos de bactérias. Atualmente, é a única bacteriocina com uso liberado como aditivo alimentar para controle antimicrobiano, sendo regulamentada pelo comitê de aditivos alimentares do Codex Alimentarius da FAO como GRAS (Generally Recognised as Safe), todavia, a utilização deste composto em alimentos, pode ser limitada, visto a sua instabilidade e principalmente atividade em pH alcalino (MARTINIS et al., 2001; KRUGER, 2006).

STRAUME et al. (2007) afirmaram que a produção de bacteriocinas em algumas bactérias faz parte do mecanismo quorum-sensing, demonstrando assim o envolvimento das moléculas autoindutoras agindo como sinais indutores para a expressão de genes e a consequente de bacteriocinas.

Diante das propriedades antibacterianas das bacteriocinas, pesquisadores verificaram que a nisina, produzida por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, possui ação inibitória comprovada contra bactérias Gram positivas e ainda supõem que a ação do antimicrobiano provoque a lise de células vegetativas devido a permeabilização da membrana citoplasmática, diante da formação de poros que promovem o extravasamento dos constituintes intracelulares de baixo peso molecular como ATP, íons de potássio e aminoácidos, com consequente colapso das células, principalmente pela privação de fonte de energia (MARTINIS et al., 2001; DEEGAN et al, 2006).

Considerando o controle da expressão gênica, PAIVA (2011) propôs verificar a possível regulação pelo sistema *quorum sensing* na interação in vitro de uma amostra de *E. coli* da microbiota intestinal com amostras de *E. coli* enteropatogênica atípica (aEPEC). Seus resultados confirmaram a produção de moléculas sinalizadoras ou autoindutoras (AI-3) por amostras de *E. coli* da microbiota intestinal e, além disso, nos ensaios de adesão e quantificação utilizando um meio pré-condicionado contendo a amostra, epinefrina e bloqueadores, constatou que os

padrões de adesão de aEPEC obtidos em menor tempo foram decorrentes da presença da molécula sinalizadora AI-3 no meio pré-condicionado, sugerindo a participação do mecanismo de *quorum sensing* nos casos pré-determinados.

RUMJANEK et al. (2004) descreveram que baixas densidades populacionais de estirpes patogênicas, teriam uma chance limitada frente aos sistemas de defesa de um hospedeiro (animal ou vegetal) e conseqüentemente estariam em condições desfavoráveis ao ataque deste organismo. Desta forma, um adiamento na expressão dos fatores de virulência pelo agente patogênico até a obtenção de um maior número de células e a adoção do comportamento coletivo seria a melhor estratégia, visto que a ativação do sistema de defesa do organismo seria apenas quando em condições mais favoráveis ao agente patogênico.

Diante das possibilidades de comunicação entre as bactérias, verifica-se a necessidade de novas formas de análise da expressão gênica, visto a interferência de substâncias produzidas por outras bactérias e até por hospedeiros, na expressão de genes que muitas vezes não seriam expressos em condições normais. Em contrapartida, verifica-se que a presença de moléculas sinalizadores de outros microrganismos pode anular algum mecanismo de patogenicidade de outro agente presente na microbiota (WINZER et al., 2002; PAIVA, 2011). Como exemplo, pode ser citado o estudo de RASKO et al. (2008) que identificaram uma molécula capaz de se ligar ao receptor de AI-3, e desta forma conseguiu o bloqueio da expressão de fatores de virulência de EHEC, *Salmonella* e *Francisella*.

2.5 Quorum sensing na microbiologia de alimentos

Diante da comunicação celular em diversas espécies de microrganismos, acredita-se que o mecanismo *quorum sensing* também desempenhe funções importantes na ecologia microbiana de alimentos, tanto na deterioração destes produtos quanto na multiplicação de patógenos e produção de toxinas (PINTO, 2005; AMMOR et al., 2008).

Os alimentos podem apresentar sistemas microbianos complexos, contendo microbiotas altamente suscetíveis às diferentes condições de estresse e alterações ambientais decorrentes dos métodos de conservação empregados no processamento industrial. Diante das diferentes condições em que as populações bacterianas presentes nos alimentos estão suscetíveis, pesquisadores sugerem que as moléculas sinalizadoras ou autoindutoras possam estar implicadas na regulação de fenótipos importantes, envolvidos na deterioração de alimentos e toxinfecções alimentares, devido à ativação da expressão genética principalmente pela ocorrência do *quorum sensing* em bactérias deteriorantes e patogênicas (CHRISTENSEN et al., 2003; SMITH et al., 2004; VIANA, 2006).

Estudos realizados por GRAM et al. (2002) e FLODGAARD et al. (2003) detectaram a presença de concentrações elevadas de moléculas sinalizadoras em alimentos industrializados e associaram este achado com a presença de microrganismos deteriorantes pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. Diversos gêneros bacterianos foram descritos como produtores de AHLs em alimentos como leite, frango, peixes, produtos cárneos e em uma variedade de alimentos em processo de deterioração como salmão defumado a frio, carne embalada a vácuo e broto de feijão (GRAM et al., 2002; BRUHN et al., 2004; PINTO et al., 2007; PONCE, 2007).

No tocante as observações quanto a atuação do *quorum sensing* sobre patógenos de origem alimentar, ZHAO et al. (2006) foram os primeiros a buscar a caracterização deste mecanismo no *Clostridium botulinum*. A detecção de moléculas

sinalizadoras foram avaliadas por cepas de *Vibrio harveyi* e os resultados revelaram a presença do autoindutor AI-2, responsável por comunicação entre espécies. Observou-se também que as células de *C. botulinum* se comunicam entre si durante a fase de germinação e multiplicação e os esporos não se comportam de forma independente uns dos outros.

Na tentativa de avaliar a produção de AHLs por bactérias Gram negativas isoladas em alimentos, RAVN et al. (2001) avaliaram os sistemas monitores *Escherichia coli* pSb403, *Agrobacterium tumefaciens* A136 e *Chromobacterium violaceum* CV026 testando a indução e inibição do pigmento violaceína. Nos resultados, verificaram que apenas uma das 148 cepas apresentou resultado negativo, indicando assim a produção de autoindutores na maioria das bactérias utilizadas no estudo.

Muitas bactérias psicotróficas e proteolíticas como *Pseudomonas* spp, *Serratia* spp, *Enterobacter* spp e *Halfnia alvei*, frequentemente isoladas em leite cru e pasteurizado são capazes de produzir diferentes moléculas AHLs, indicando assim a participação e interferência do *quorum sensing* no processo de deterioração de alimentos, principalmente leite e derivados (VIANA, 2006; PINTO et al., 2007).

AMMOR et al. (2008) detectaram a presença de AHLs em amostras de leite cru, pasteurizado e esterilizado - tanto integral quanto desnatado. Seus resultados mostraram que apenas as moléculas autoindutoras AHLs produzidas pela família *Pseudomonadaceae* e *Enterobacteriaceae* não puderam ser detectadas nas amostras de leite submetidas ao tratamento térmico, sugerindo assim que as AHLs produzidas inicialmente pelos microrganismos no leite cru, foram inibidas totalmente ou alteradas parcialmente após o processamento térmico. No entanto, LU et al. (2004) verificaram que as moléculas sinalizadoras AI-2 podem suportar o aquecimento a 80°C, sugerindo que a pasteurização do leite não é capaz de inibir os sinais do tipo AI-2, indicando desta forma que, a pasteurização do leite não destrói proteases endógenas, estas que são responsáveis pela deterioração do leite.

Apesar do reconhecimento do mecanismo de comunicação celular e a confirmação de que moléculas sinalizadoras estejam envolvidas na regulação de fenótipos, a simples detecção dos autoindutores em microrganismos não é suficiente para se constatar qual o fenótipo está sendo regulado. Para tanto, WHITELEY et al. (1999) estudando a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, construíram um banco de dados de genes possivelmente regulados por AHLs, por meio das técnicas de mutagênese insercional com o transposon Tn5 e por fusões randômicas do gene lacZ no cromossomo de mutantes duplos lasI/rhl, incapazes de sintetizar AHL. Monitorando a expressão de β -galactosidase na presença ou ausência das moléculas autoindutoras 3-C12-AHL e C4-AHL, constataram que um total de 39 genes estavam sob o controle do mecanismo de sinalização *quorum sensing*.

Sob a mesma visão, DUNSTALL et al. (2005) verificaram o efeito de nove AHLs sintéticas na multiplicação de *Pseudomonas fluorescens* isoladas de leite. Com este estudo, constataram que N-benzoiloxycarbonil-L-homoserina lactona e N-3-oxihexanoil-DL-homoserina lactona reduziram a duração da fase lag da curva de multiplicação microbiana e ampliaram a taxa de crescimento de três estirpes avaliadas, porém sugeriram mais estudos a fim de elucidar o efeito de AHLs sobre a atividade proteolítica. PINTO et al. (2007) ao analisarem o mecanismo de *quorum sensing* em bactérias psicotróficas proteolíticas isoladas de leite, constataram que 89% das estirpes avaliadas foram produtoras de AHLs, porém ao avaliarem a adição de AHL sintética ao meio de cultura contendo cepas de *P. fluorescens*, verificaram que a adição de autoindutores não promoveu aumento da atividade proteolítica,

sendo este um indicativo de que o sistema *quorum sensing* mediado por AHL não estivesse exercendo influência na regulação da síntese de enzimas proteolíticas pela estirpe *P. fluorescens* 07A.

A microbiota presente em carnes frescas inclui principalmente os microrganismos da família *Enterobacteriaceae*, além de *S. putrefaciens*, *B. thermosphacta*, *Pseudomonas* spp e estes muitas vezes estão relacionados com a sua deterioração (NYCHAS et al., 2009).

O sistema *quorum sensing* nestes alimentos envolve tanto a deterioração de carnes frescas e derivados, armazenados sob condições de refrigeração e aerobiose, quanto à formação de biofilmes. A produção de AHLs tem sido detectada em muitos produtos cárneos e está envolvida diretamente na atividade proteolítica destes alimentos (SMITH et al., 2004; AMMOR et al., 2008).

LU et al. (2004) propuseram em seu estudo determinar se produtos frescos e alimentos processados possuem as moléculas AI-2 como sinais precursores do sistema *quorum sensing* e se aditivos alimentares podem atuar como inibidores destas moléculas. Baseando na resposta de luminescência do biosensor *Vibrio harveyi* BB170, a máxima atividade de AI-2 foi vista sobre a amostra de peixe congelado, seguida pelo tomate, melão, cenoura, tofu e amostras de leite. A inibição da molécula AI-2 foi constatada nas amostras de empada de peru (com 99,8% de inibição quando comparado com o controle positivo), seguidas de peito de frango (97,5%), queijos artesanais (93,7%), bife de carne bovina (90,6%) e empada de carne bovina (84,4%).

Quanto aos aditivos alimentares, a atividade do sinal AI-2 foi quase totalmente inibida por propionato de sódio, enquanto que o benzoato de sódio causou inibição de 93,3%, em comparação com a inibição de 75% por acetato de sódio. Nitrato de sódio não teve qualquer efeito apreciável, mesmo a 200 ppm. Deste modo, a compreensão das relações existentes entre a atividade de AI-2 sobre os alimentos e a ecologia de patógenos e bactérias deteriorantes nos alimentos podem fornecer pistas sobre os fatores de controle da deterioração dos alimentos e virulência de patógenos (LU et al., 2004).

MEDINA-MARTINEZ et al. (2006) verificaram a influência de condições ambientais sobre alimentos na produção de moléculas sinalizadoras AHLs por 13 estirpes de *Aeromonas* spp isoladas de alimentos como bacon, carne, salmão e vegetais, sendo possível afirmar que mesmo sob diferentes condições de temperatura, valores de pH e concentrações de NaCl, 11 estirpes foram capazes de produzir AHLs, em particular a molécula C4-HSL.

Diante da preocupação quanto à presença de bactérias em fórmulas infantis, que são utilizadas como fonte de alimentação para lactentes de forma exclusiva ou em combinação com outros alimentos, ESPER (2010) propôs verificar se a contaminação destes alimentos por *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp) e *Bacillus cereus* poderia ser resultante do contato do alimento com biofilmes formados em ambientes, utensílios e equipamentos empregados durante a produção ou seria posterior, já nos locais de distribuição dos produtos. Além da avaliação da dinâmica de formação de biofilmes em superfície de aço inoxidável, verificou-se a ocorrência dos sistemas *quorum sensing* e *quorum quenching* - mecanismo inibidor - envolvendo *E. sakazakii* (*Cronobacter* spp.) e *B. cereus* e a possível influência das moléculas sinalizadoras na sensibilidade destas bactérias aos antimicrobianos.

Como resultados, ESPER (2010) observou que a formação de biofilmes ocorreu de forma mais intensa na utilização da fórmula infantil, quando comparado com o meio de cultivo e constatou a existência dos sistemas *quorum sensing* e

quorum quenching, através dos testes de atividades biológicas das culturas, extratos e suas frações, demonstrando que a formação de biofilmes, assim como em outros mecanismos celulares como a produção de bacteriocinas e fatores de virulência, podem ser modulados pelo processo de comunicação célula-célula, *quorum sensing*, e interrompidos pela quebra deste sistema, através da degradação das moléculas sinalizadoras de comunicação, denominada *quorum quenching*.

A atuação do fenômeno de *quorum sensing* sobre bactérias Gram positivas já foi descrita em processos como o desenvolvimento de competência genética em *Bacillus subtilis* e *Streptococcus pneumoniae*, a expressão de enzimas e antibióticos em *Erwinia carotovora*, a conjugação em *Agrobacterium tumefaciens* e *Enterococcus faecalis*, a expressão de virulência em *Staphylococcus aureus* e produção de peptídeos antimicrobianos por várias espécies de bactérias lácticas (ANTUNES, 2003).

KUIPERS et al. (1998) afirmaram que uma das melhores caracterizações do mecanismo de comunicação celular em bactérias lácticas envolvem a biossíntese da nisina. O processo de transcrição dos genes buscando a síntese deste peptídeo depende diretamente da concentração de nisina extracelular, esta que por sua vez é proporcional e dependente da densidade populacional da cultura produtora. DUFOUR et al. (2007) afirmaram que a acidificação do meio é decorrente do metabolismo das bactérias lácticas e pode ser um sinal indicativo da densa população de espécies produtoras de nisina, esta que, além de agir como peptídeo antimicrobiano, age também como um peptídeo capaz de induzir sua própria biossíntese, enquadrando-se ao mecanismo de autoindução conhecido como *quorum sensing*.

No tocante a aplicação de antimicrobianos naturais como uma opção interessante e aplicável no processamento de alimentos e na busca do controle de microrganismos, KRUGER (2006) propôs avaliar o efeito de óleo essencial de orégano e de nisina, individualmente ou em combinação, na inibição da multiplicação de *Listeria monocytogenes* visto que os óleos essenciais e seus compostos fenólicos, assim como a nisina, estão se tornando agentes antimicrobianos naturais muito populares, devido à procura de alimentos naturais pelos consumidores. Os resultados indicaram que a combinação dos antimicrobianos pode ser utilizada como uma barreira adicional para a multiplicação de *L. monocytogenes* em linguiça frescal suína, porém como as amostras não foram aprovadas nos testes sensoriais de aceitação, a adição destes compostos poderia limitar sua aplicação neste produto.

TRUCHADO et al. (2009) avaliaram a atividade inibitória do *quorum sensing* sobre 29 amostras de diferentes tipos de méis uniflorais, por meio do modelo bacteriano *Cromobacterium violaceum*. As amostras foram capazes de inibir a produção de acil-homoserina lactonas (AHLs) produzido por *C. violaceum* em 0,1 g / mL, valendo destacar que as amostras de méis produzidas de castanheiros e tília mostraram a maior atividade inibitória, enquanto os méis de laranja e alecrim foram os menos eficazes em inibir o *quorum sensing*. Quando as amostras de mel com a mesma origem floral obtidos de diferentes regiões geográficas foram comparadas, a atividade inibitória entre elas mostrou-se semelhante, podendo inferir que um dos fatores que influenciam a atividade inibitória do *quorum sensing* poderia ser derivada a partir da origem floral, independentemente da localização geográfica. Os resultados obtidos mostraram que as propriedades conservantes do mel pode ser tanto pelas propriedades antimicrobianas quanto pela capacidade inibitória do *quorum sensing*.

Diante das diferentes manifestações do mecanismo de *quorum sensing* e sua relação com bactérias deteriorantes ou patogênicas isoladas de alimentos, percebe-se a necessidade da compreensão do papel deste sistema e a ecologia dos microrganismos de origem alimentar. Muitas moléculas sinalizadoras já foram identificadas em bactérias isoladas de fontes alimentares variadas, porém faz-se necessário verificar a expressão de genes relacionados ao sistema *quorum sensing* e sua manifestação fenotípica em cada agente (PINTO et al., 2007).

2.6 Métodos de detecção e quantificação dos sinais de *Quorum sensing* envolvendo alimentos

Os procedimentos envolvendo a detecção, identificação e quantificação das moléculas autoindutoras por bactérias tem sido alvo de estudos. Atualmente, a verificação da produção de AHL por bactérias tem sido por meio da utilização de biosensores bacterianos, que se baseiam na resposta fenotípica, como bioluminescência, produção do pigmento violaceína ou atividade de β -galactosidase, consequentes da ativação e resposta da proteína receptora de AHL (RAVN et al., 2001; AMMOR et al., 2008; GORI & JESPERSEN, 2010).

Estes biosensores bacterianos não são capazes de produzir moléculas sinalizadoras AHLs seja naturalmente ou por inativação do gene *LuxI* responsável pela produção de AHLs, porém, possuem ativas as proteínas receptoras, denominadas de proteínas R, que são capazes de responder a diferentes AHLs regulando a expressão de determinados genes e consequentemente respostas fenotípicas adequadas (McCLEAN et al., 1997).

As bactérias geralmente usadas pelos sistemas de monitoramento como indicadoras da produção de moléculas autoindutoras são *Agrobacterium tumefaciens* A136 (SHAW et al., 1997), *Chromobacterium violaceum* CV026 (McCLEAN et al., 1997) e *Escherichia coli* com plasmídeo pSB403 contendo a proteína *LuxR* de *V. fischeri* e genes de bioluminescência (SWIFT et al., 2001).

Devido à especificidade das proteínas receptoras e a diversidade das moléculas sinalizadoras, um mesmo sistema biosensor não é capaz de detectar todas as estirpes produtoras de AHL em uma população, sendo recomendada a utilização de mais de um sistema em uma análise (RAVN et al., 2001; AMMOR et al., 2008). Segundo GRAM et al. (2002), os sistemas monitores de AHL mais usados são *C. violaceum* CV026 e *E. coli* pSB403, pois são capazes de detectar diferentes espectros de moléculas AHLs. Desta forma, a utilização dos sistemas de monitoramento biológico confere a avaliação dos diferentes tipos de AHLs de uma forma mais rápida e principalmente menos onerosa.

Além da utilização das bactérias biosensoras, a identificação de AHL pode ser realizada por meio das técnicas de cromatografia líquida (HPLC), cromatografia gasosa (GC), espectrometria de massa e cromatografia de camada fina (TLC) (THROUP et al., 1995; SCHAEFER et al., 2000; CATALDI et al., 2007). A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) também pode ser utilizada para identificar os genes envolvidos no sistema *quorum sensing*, assim como quantificar seus níveis de transcrição e tradução, principalmente quanto a síntese de aminoácidos e pequenos peptídeos utilizados por bactérias Gram positivas na comunicação intraespecífica e a diversidade de proteínas homólogas *LuxI* e *LuxR* envolvidas no mecanismo de autoindução de AHLs (NAKAYAMA et al., 2003; AMMOR et al., 2008).

2.7 Mecanismos de inibição do sistema *quorum sensing* e aplicações biotecnológicas

O estudo dos sistemas de QS, além de detalhar os fundamentos envolvidos nos mecanismos de parasitismo e simbiose dos microrganismos, vem permitindo a descoberta de meios inovadores para o controle de infecções em plantas e animais. Além disso, mediante o envolvimento na expressão da virulência de patógenos, o controle deste mecanismo tornou-se um alvo atraente e promissor para o desenvolvimento de novas terapias antimicrobianas (ANTUNES, 2003; RUMJANEK et al., 2004).

Diante da possibilidade de interrupção ou manipulação do mecanismo de comunicação celular, muitas pesquisas vêm buscando a utilização de compostos análogos ou antagonistas ou até mesmo enzimas capazes de degradar moléculas sinalizadoras do sistema *quorum sensing*, levando a alteração significativa dos fenótipos regulados por este mecanismo, como por exemplo o controle da multiplicação de microrganismos ou até mesmo a inibição dos mecanismos de virulência de bactérias presentes em diferentes ambientes, principalmente nos alimentos (SMITH et al., 2004; PILLAI & JERUDHASAN, 2006).

O bloqueio ou a inibição do sistema QS pode ser obtido por meio de autoindutores inespecíficos, que se ligam à proteína R, mas não a ativam, e desta forma, impedem a ligação de tais proteínas aos autoindutores específicos; e por meio da interrupção das reações biológicas de síntese de autoindutores baseando-se no uso de análogos de precursores dessas moléculas (ANTUNES, 2003; RUMJANEK et al., 2004; BAI & RAI, 2011).

Até o momento, foram descritas duas classes de enzimas capazes de degradar as moléculas sinalizadoras AHLs: as lactonases de AHL (*aiiA* e homólogos *attM*), capazes de hidrolisar o anel lactona, e as acilases de AHL, responsáveis pela hidrólise da ponte amida entre a cadeia de ácido graxo e a molécula de homoserina lactona (DONG et al. 2002). Ambas foram identificadas em diversas bactérias, mas também encontradas em hospedeiros eucariotos, supondo assim que a interferência da sinalização por eucariotos pode se constituir um determinante adicional da resposta imune inata (XU et al. 2003; BAI & RAI, 2011).

Como aplicação prática deste mecanismo de inibição do QS, a síntese química das enzimas capazes de degradar as AHLs seria uma alternativa interessante como composição dos detergentes utilizados na indústria, pois aumentaria a possibilidade de remoção de biofilmes (SMITH et al., 2004; VIANA, 2006).

Na microbiologia de alimentos, PILLAI & JESUDHASAN (2006) afirmaram que compostos inibidores de *quorum sensing*, principalmente os que atuam sobre as moléculas autoindutoras - AHL -, podem influenciar a colonização microbiana de superfícies de carnes, produção de toxinas e proliferação microbiana, podendo ser aplicados como conservantes de alimentos.

Na área médica, a aplicação do conhecimento sobre os mecanismos de sinalização entre espécies, poderia influenciar na descoberta de novos medicamentos capazes de combater microrganismos que possivelmente já se encontram resistentes aos antimicrobianos presentes no mercado. Outra aplicação deste mecanismo de inibição seria no bloqueio da formação de biofilmes bacterianos, aumentando a sensibilidade das bactérias às drogas e principalmente ao sistema imunológico dos hospedeiros (ANTUNES, 2003).

Considerando a necessidade do controle de microrganismos, os mecanismos de intervenção que o sistema *quorum sensing* permite, seriam de grande valia na

agricultura. Acredita-se que muitas bactérias associadas a plantas, sejam elas, simbióticas ou patogênicas, utilizam os mecanismos de sinalização como norteador de sua sobrevivência e multiplicação no ambiente. Como as moléculas autoindutoras produzidas por plantas podem também ativar os sistemas de *quorum sensing* de bactérias causadoras de doenças, estudos revelam que estimulando-se a produção precoce de fatores de virulência por essas bactérias, seria possível permitir ao sistema de defesa das plantas o reconhecimento destas moléculas e a consequente eliminação da infecção de forma mais simples (ANTUNES, 2003; RUMJANEK et al., 2004).

Até o momento, inúmeros mecanismos de *quorum sensing* foram descritos nas diversas espécies bacterianas, porém são necessárias novas pesquisas para desmistificar este fenômeno tão complexo e intrigante, a fim de ampliar a compreensão deste mecanismo e até mesmo de sua inibição, para atuar principalmente no controle de microrganismos indesejáveis e produção de metabólitos prejudiciais aos alimentos, contribuindo na preservação e garantia de qualidade destes produtos, além do controle da formação de biofilmes e a manifestação de doenças infecciosas que representam risco à saúde e bem estar do homem.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Até a década de 60, acreditava-se que as bactérias fossem seres individuais, independentes e incapazes de comunicarem entre si. Entretanto, com o desenvolvimento da ciência, pesquisadores notaram que as bactérias podem se comunicar e dimensionar sua população, baseando-se por uma sinalização química como vocabulário. Este mecanismo de comunicação celular acontece devido ao reconhecimento de concentrações mínimas de moléculas sinalizadoras ou autoindutores, permitindo a distinção entre as bactérias, a percepção do tamanho populacional e, conseqüentemente, a modulação da expressão de seus genes de acordo com a densidade de células presentes no ambiente.

Por meio do sistema *quorum sensing*, diversas bactérias monitoram a densidade populacional e modulam a expressão de seus genes adequadamente, e através disso, são capazes de regular uma série de comportamentos bacterianos e características fenotípicas, como a bioluminescência, esporulação, virulência, conjugação, formação de biofilme e produção de bacteriocinas.

Considerando este sistema elaborado de comunicação entre células, dependente de densidade celular, o conhecimento de fenótipos controlados por este mecanismo pode contribuir para a elucidação de processos importantes na microbiologia de alimentos, envolvendo tanto os microrganismos deteriorantes quanto os patogênicos.

Acredita-se que o *quorum sensing* esteja envolvido na deterioração de alimentos, devido à presença de moléculas sinalizadoras sintetizadas por diferentes gêneros de bactérias, incluindo muitos membros da família *Enterobacteriaceae*, isoladas de alimentos, como produtos cárneos e leite. Quanto aos patógenos alimentares, diante do número de doenças veiculadas por alimentos, envolvendo principalmente microrganismos dos gêneros *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* e *E. coli*, alguns estudos vem buscando formas alternativas de intervenção no processo e principalmente mais qualidade aos produtos.

De acordo com as características que o *quorum sensing* apresenta sobre os microrganismos, uma das soluções seria a interferência neste mecanismo de comunicação das bactérias, impedindo ou dificultando assim sua multiplicação, a

formação de comunidades bacterianas conhecidas como biofilmes em equipamentos, utensílios e em alimentos, e até mesmo na expressão da virulência do agente, o que seria altamente benéfica para a qualidade destes alimentos e consequentemente para a saúde do consumidor.

A compreensão do processo de *quorum sensing* e a identificação das moléculas envolvidas nos diferentes sistemas de comunicação podem ser úteis para a ciência e principalmente para a indústria, pois este fenômeno celular além oferecer uma alternativa atrativa aos tradicionais antibióticos, vem aplicando técnicas interessantes baseando-se na utilização de conservantes naturais de alimentos e a inibição do sistema dificultando a formação de biofilmes em alimentos, equipamentos e utensílios.

Diante do exposto, vale destacar que independente da aplicação prática, a compreensão do *quorum sensing* amplia os conhecimentos sobre a microbiologia e pode trazer novas idéias a respeito dos mecanismos de sinalização e a consequente evolução dos organismos.

REFERÊNCIAS

AHMER, B. M. M. Cell-to-cell signalling in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. **Molecular Microbiology**, Salem, v. 52, n. 4, p. 933-945, jan/2004.

AMMOR, M. S.; MICHAELIDIS, C.; NYCHAS, G. J. Insights into the role of quorum sensing in food spoilage. **Journal of food protection**, Des Moines, v. 71, n. 7, p. 1510-25, jul./2008.

ANTUNES, L. C. M. A linguagem das bactérias. **Ciência hoje**, São Paulo, v. 33, n. 193, 2003.

BAI, A. J.; RAI, V. R. Bacterial *Quorum Sensing* and Food Industry. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Amsterdam, v. 10, n. 3, p. 183-193, May/ 2011.

BLOSSER, R. E.; GRAY, F. Extraction for violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 40, n.1, p. 47-55, mar./ 2000.

BRAZILIAN NATIONAL GENOMA PROJECT CONSORTIUM. The complete genome sequence of *Chromobacterium violaceum* reveals remarkable and exploitable bacterial adaptability. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 100, n. 20, p.11660-11665, sep./ 2003.

BRUHN, J. B.; CHRISTENSEN, A. B.; FLODGAARD, L. R.; NIELSEN, K. F.; LARSEN, T.; GIVSKOV, M.; GRAM, L. Presence of acylated homoserine lactones (AHLs) and AHL-producing bacteria in meat and potential role of AHL in spoilage of meat. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 7, p. 4293-4302, 2004.

CATALDI, T. R.; BIANCO, G.; PALLAZZO, L.; QUARANTA, V. Occurrence of N-acyl-homoserine lactones in extracts of some gram-negative bacteria evaluated by gas

chromatography-mass spectrometry. **Analytical biochemistry**, Orlando, v. 361, p. 226-235, 2007.

CHEN, X.; SCHAUDER, S.; POTIER, N.; VAN DORSSELAER, A.; PELCZER, I.; BASSLER, B. L.; HUGHSON, F. M. Structural identification of a bacterial *quorum sensing* signal containing boron. **Nature**, Hawthorne, v. 415, p.545-549, 2002.

CHRISTENSEN, A. B.; RIEDEL, K.; EBERL, L.; FLODGAARD, L. R.; MOLIN, S. GRAM, L., G. M. Quorum-sensing-directed protein expression in *Serratia proteamaculans* B5a. **Microbiology**, Cambridge, v. 149, p. 471-483, 2003.

CLARKE, M. B. HUGHES, D.; ZHU, C.; BOEDEKER, E. C.L SPERANDIO, V. The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 103, n. 27, p. 10420-10425, jul./ 2006.

DAVIES, D. G.; PARSEK, M. R.; PEARSON, J. P; IGLEWSKI, B. H.; COSTERNON, J. W.; GREENBERG, E. P. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. **Science**, New York, v. 280, n. 5361,p. 295-298, apr./ 1998.

DEEGAN, L. H.; COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, P. Bacteriocins: Biological tools for biopreservation and shelf-life extension- A review.**International Dairy Journal**, Barking, v. 16, n.9, p. 1058-1071, 2006

DONG, Y. H.; GUSTI, A. R.; ZHANG, Q.; XU, J. L.; ZHANG, L. H. Identification of quorum-quenching N-acyl homoserine lactonases from *Bacillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 4, p. 1754-1759, mar./ 2002.

DUFOUR, A.; HINDRE, T.; HARAS, D.; LEPENNEC, J. P. The biology of lantibiotics from the lactacin 481 group is coming of age, **FEMS microbiology reviews**, England, v. 31, n. 2, p.134-167, mar./ 2007.

DUNSTALL, G.; ROWE, M.; WISDOM, B.; KILPATRICK, D. Effect of *quorum sensing* agents on the growth kinetics of *Pseudomonas* spp. of raw milk origin. **Journal of Dairy Research**, Champaign, v. 72, n. 3, p. 276-280, ago./ 2005.

EL SAYED, A. K.; HOTHERSALL, J.; THOMAS, C. M. Quorum sensing-dependent regulation of biosynthesis of the polyketide antibiotic mupirocin in *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586. **Microbiology**, Washington, v. 147, p. 2127-2139, 2001.

ESPER, L. M. R. ***Enterobacter sakazakii* (Cronobacter spp.) and Bacillus cereus: quorum sensing, biofilm formation and efficacy of sanitizers.** 2010. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas.

FLODGAARD, L.R.; CHRISTENSEN, A. B.; MOLIN, S.; GIVSKOV, M.; GRAM, L. Influence of food preservation parameters and associated microbiota on production rate, profile and stability of acylated homoserine lactones from foodderived

Enterobacteriaceae. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.84, n.2, p.145-156, jul./ 2003.

FUQUA, C.; PARSEK, M. R.; GREENBERG, E. P. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: Acyl-Homoserine Lactone *Quorum Sensing*. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 35, p. 439-468, 2001.

FUQUA, C.; GREENBERG, E. P. Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signaling. **Nature Reviews - Molecular Cell Biology**, London, v 3, p. 685-695, 2002.

GORI, K.; JESPERSEN, J. The language of cheese-ripening cultures. **Australian journal of dairy technology**, Highett, v. 65, n. 3, nov./2010.

GRAM, L.; RAVN, L.; RASCH, M.; BRUHN, J. B.; CHRISTENSEN, A. B.; GIVSKOV, M. Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.78, n. 1-2, p.79-97, sep. /2002.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

HUBER, B.; RIEDEL, K.; HENTZER, M.; HEYDORN, A.; GOTSCHLICH, A.; GIVSKOV, M.; MOLIN, S.; EBERL, L. The cep quorum-sensing system of *Burkholderia cepacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility. **Microbiology**, Oxford, v. 147, n. 9, p. 2517-2528, sep./ 2001.

KELLER, L.; SURETTE, M. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. **Nature Reviews in Microbiology**, London, v. 4, n. 4, p.248-258, abr./ 2006.

KHAN, S.R.; MAVRODI, D. V.; JOG, G. J.; SUGA, H.; THOMASHOE, L. S.; FARRAND, S. K. Activation of the phz operon of *Pseudomonas fluorescens* 2-79 requires the LuxR homolog PhzR, N-(3-OH-hexanoil)-L-homoserine lactone produced by the LuxI homolog PhzI, and a cis-acting phz box. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v. 187, n.18, p. 6517-6527, 2005.

KRUGER, M. F. **Controle de *Listeria monocytogenes* em linguiça frescal refrigerada através do uso de óleo essencial de orégano e nisina**. 2006. 91f. Dissertação (Mestrado em Bromatologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo.

KUIPERS, O.P., DE RUYTER, P.G.G.A., KLEEREBEZEM, M., DE VOS, W.M. Quorum sensing-controlled gene expression in lactic acid bacteria. **Journal of biotechnology**, Amsterdam, v. 64, p. 15-21, 1998.

LERAT, E.; MORAN, N. A. The evolutionary history of quorum sensing systems in bacteria. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 21, n.5, 2004.

LU, L.; HUME, M. E.; PILLAI, S. D. Autoinducer-2-like activity associated with foods and its interaction with additives. **Journal of food protection**, Ames, v. 67, n. 7, p. 1457-1462, 2004.

MARTINIS, E. C. P.; PUBLIO, M. R. P.; SANTAROSA, P. R.; FREITAS, F. Z. Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged Brazilian meat and meat products. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 32-37, jan/mar. 2001.

MARTINELLI, D.; GROSSMAN, G.; SÉQUIN, U.; BRAND, H.; BACHOFEN, R. Effects of natural and chemically synthesized furanones on *quorum sensing* in *Chromobacterium violaceum*. **BioMed Central Microbiology**, Bethesda, v. 4, n. 25, 2004.

McCLEAN, K.H., WINSON, M.K., FISH, L., TAYLOR, A., CHHABRA, S.R., CAMARA, M., DAYKIN, M., LAMB, J.H., SWIFT, S., BYCROFT, B.W., STEWART, G.S., WILLIAMS, P. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones. **Microbiology**, England, v. 143, p. 3703-3711, 1997.

McCULLOCH, J. A. **Avaliação da funcionalidade do locus *accessory gene regulator(agr)* em cepas de *Staphylococcus aureus* brasileiras com suscetibilidade reduzida aos glicopeptídeos** 2006. 128 f. Tese (Doutorado em Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MEDINA-MARTINEZ, M.S.; UYTENDAELE, M.; DEMOLDER, V.; DEBEVERE, J. Influence of food system conditions on N-acyl-L-homoserine lactones production by *Aeromonas* spp. **International Journal of Food Microbiology**, v. 112, n. 3, p. 244-252, jun./ 2006.

MILLER, M. B.; BASSLER, B. L. Quorum sensing in bacteria. **Annual Review of Microbiology**, England, v.55, p.165-199, 2001.

NAKAYAMA, J.; AKKERMANS, A. D.; De Vos, W. M. High-throughput PCR screening of genes for three-component regulatory system putative involved in quorum sensing from low-G +C Gram-positive bacteria. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, Tokyo, v.67, n. 3, p. 480-489, mar. /2003.

NASCIMENTO, M. S.; MORENO, I.; KUAYE, A. Y. Bacteriocinas em alimentos: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 120-127, abr./jun. 2008

NYCHAS, G.J.E.; DOUROU, D.; SKANDAMIS, P.; KOUTSOUMANIS, K.; BARANYI, J.; SOFOS, J. Effect of microbial cell-free meat extract on the growth of spoilage bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 107, n. 6, p. 1819-1829, dec. 2009.

PAIVA, F. P. T. **Quorum sensing em *Escherichia coli* enteropatogênica atípica.** 2011. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

PARSEK, M. R.; GREENBERG, E. P. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 13, n. 1, p. 28-33, jan. 2005.

PILLAI, S.D.; JERUDHASAN, P. R. Quorum sensing: how bacteria communicate. **Food Technology**, Chicago, v.60, n.4, p.42-50, 2006.

PINTO, U. M. **Quorum sensing em bactérias psicrotróficas proteolíticas isoladas de leite** 2005. 87f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.- MG.

PINTO, U. M.; VIANA, E. S.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Detection of acylated homoserine lactones in Gram-negative proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from cooled raw milk. **Food control**, Guildford, v. 18, n. 10, p. 1322-1327, out. 2007.

PITLOVANCIV, A. K.; CARIS, M. E.; PORTO, L. M.; PEDROSA, R. C. ANTONIO, R. V. Condições de cultivo e produção de pigmentos por *Chromobacterium violaceum*. **Biotemas**, Florianópolis, v.19, n.1, p. 13-18, mar. 2006.

PONCE, A. R. **Características fenotípicas controladas pelo sistema quorum sensing em *Enterobacter cloacae*.** 2007. 57f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

RASKO, D. A.; MOREIRA, C. G.; LI, D. R.; READING, N. C.; RITCHIE, J. M.; WALDOR, M. K.; WILLIAMS, N.; TAUSSIG, R.; WEI, S.; ROTH, M.; HUGHES, D. T.; HUNTLEY, J. F.; FINA, M. W.; FALCK, J. R.; SPERANDIO, V. Targeting QseC Signaling and Virulence for Antibiotic Development. **Science**, Amsterdam, v. 321, p. 1078-1080, 2008.

RAVN, L., CHRISTENSEN, A.B., MOLIN, S., GIVSKOV, M., GRAM, L. Methods for detecting acylated homoserine lactones produced by Gram-negative bacteria and their application in studies of AHL-production kinetics. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 44, n. 3, p.239-251,abr. 2001.

READING, N. C.; SPERANDIO, V. Quorum sensing: the many languages of bacteria. **FEMS microbiology letters**. Amsterdam, v. 254, n. 1, p. 1-11, jan. 2006.

RUMJANEK, N. G.; FONSECA, M. C. C. XAVIER, G. R. *Quorum sensing* em sistemas agrícolas. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Belo Horizonte, Edição nº 33 - jul/dez.2004.

SCHAEFER, A. L.; HANZELKA, B. L.; PARSEK, M. R.; GREENBERG, E. P. Detection, purification and structural elucidation on the acylhomoserine lactone inducer of *Vibrio fischeri* luminescence and other related molecules. **Methods in Enzymology**, New York, v. 305, p. 288-301, 2000.

SCHAUDER, S.; BASSLER, B. L. The languages of bacteria. **Genes & development**, Cold Spring Harbor, v.15, n. 12, p.1468-1480, jun. 2001.

SCHERTZE, J. W.; BOULETTE, M. L.; WHITELEY, M. More than a signal: non-signaling properties of quorum sensing molecules. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 17, n. 5, 2009.

SHAW, P. D.; PING, G.; DALY, S. L.; CHA, C.; CRONAN, J. E. J.; RINEHART, K. L.; FARRAND, S. K. Detecting and characterizing N-acyl homoserine lactone signal molecules by thin-layer chromatography. **Proceedings National Academy Science**, Washington, v. 94, p. 6036-6041, 1997.

SMITH, J. L.; FRATAMICO, P. M.; NOVAK, J. S. *Quorum sensing*: A primer for food microbiologists. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 67, n. 5, p. 1053-1070. 2004.

SPERANDIO, V.; TORRES, A. G.; JARVIS, B.; NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Bacteria host-communication: the language of hormones. **Proceedings National Academy Science USA**, Washington, v. 100, p. 8951-8956, 2003.

STRAUME, D.; KJOS, M.; NES, I. F.; DIEP, D. B. *Quorum-sensing* based bacteriocin production is down-regulated by n-terminally truncated species of gene activators. **Molecular genetics and genomics**, Berlin, v. 278, p.283-293, 2007.

SWIFT, S.; DOWNIE, J. A.; WHITEHEAD, N. A.; BARNARD, A. M. L.; SALMOND, G. P. C.; WILLIAMS, P. Quorum sensing as a population-density-dependent determinant of bacterial physiology. **Advances in Microbial Physiology**, v. 45, p.1999-270, 2001.

THROUP, J. P.; CAMARA, M.; BRIGGS, G. S.; WINSON, M. K.; CHHABRA, S. R.; BYCROFT, B. W.; WILLIAMS, P.; STEWART, G. S. Characterisation of the *yen/yenR* locus from *Yersinia enterocolitica* mediating the synthesis of two N-acylhomoserine lactone signal molecules. **Molecular Microbiology**, Salem, v. 17, p. 345-356, 1995.

TRUCHADO, P.; LÓPEZ-GÁLVEZ, F.; GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ALLENDE, A. Quorum sensing inhibitory and antimicrobial activities of honeys and the relationship with individual phenolics. **Food Chemistry**, London, v.115, n. 4, p.1337-1344, ago. 2009.

VIANA, E. S. **Moléculas sinalizadoras de *quorum sensing* em biofilmes formados por bactérias psicrotróficas isoladas de leite**. 2006. 176f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

XU, F.; BYUN, T.; DEUSSEN, H. J.; DUKE, K. R. Degradation of N-acylhomoserine lactones, the bacterial quorum-sensing molecules, by acylase. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 101, p. 89-96, 2003.

WHITEHEAD, N. A.; BARNARD, A. M. L.; SLATER, H.; SIMPSON, N. J. L.; SALMOND, G. P. C. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 25, n. 4, p.365-404, ago.2001.

WHITELEY, M.; LEE, K.M.; GREENBERG, E. P. Identification of genes controlled by *quorum sensing* in *Pseudomonas aeruginosa*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 96, p.13904-13909, 1999.

WINZER, K.; HARDIE, K. R.; WILLIAMS, P. Bacterial cell-to-cell communication: sorry, can't talk now gone to lunch! **Current opinion in Microbiology**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 216–222, abr.2002.

WITHERS, H.; SIMON SWIFT, S.; WILLIAMS, P. Quorum sensing as an integral component of gene regulatory networks in Gram-negative bacteria. **Current opinion in microbiology**, Oxford, v. 4, n. 2, p. 186-193, apr.2001.

ZHAO, L.; MONTVILLE, T. J.; SCHAFFNER, D. W. Evidence for quorum sensing in *Clostridium botulinum* 56A. **Letters in applied microbiology**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 54-58, jan.2006.

ZHU, J.; MILLER, M. B.; VANCE, R. E.; DZIEJMAN, M.; BASSLER, B. L.; MEKALANOS, J. J. Quorum-sensing regulators control virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 99, n. 5, p. 3129-3134, 2002.