

## ET VE ET ÜRÜNLERİNDE *PSEUDOMONAS* BİYOÇEŞİTLİLİĞİ, BOZUCU ÖZELLİKLERİ, BİYOFİLM ÜRETİMİ VE ÇOĞUNLUK ALGILAMA (QUORUM SENSING) SİSTEMİ

Yasemin Şefika KÜÇÜKATA\*, Hasan YETİM, Banu METİN

İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Geliş /Received 28.03.2024; Kabul /Accepted: 12.06.2004.2024; Online baskı /Published online: 27.06.2024

Küçükata, Y. Ş., Yetim, H., Metin, B. (2024). Et ve et ürünlerinde *Pseudomonas* biyoçeşitliliği, bozucu özellikleri, biyofilm üretimi ve çoğunluk algılama (quorum sensing) sistemi. GIDA (2024) 49 (4) 607-623 doi: 10.15237/gida.GD24036

Küçükata, Y. Ş., Yetim, H., Metin, B. (2024). Biodiversity of *Pseudomonas*, spoilage characteristics, biofilm production, and quorum sensing system in meat and meat products. GIDA (2024) 49 (4) 607-623 doi: 10.15237/gida.GD24036

### ÖZ

Bozulma yapan mikroorganizmalar ve/veya patojenler gıda endüstrisinde bir endişe kaynağıdır. *Pseudomonas* türleri, düşük sıcaklıklarda depolanan gıda ürünlerinde gelişebilen, Gram negatif, aerobik ve psikrotrofik bakterilerdir. Çiğ ette bozulmaya sebebiyet veren türler arasında *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas lundensis* sayılmaktadır. Ette kötü koku, tat, renk bozulması ve mucus üretimine sebep olan psikrotrof pseudomonadlar, buzdolabı sıcaklıklarında ve aerobik şartlarda saklanan çiğ et için sorun teşkil etmektedir. Düşük sıcaklıklarda saklanan etlerde gelişen bazı *Pseudomonas* türleri güçlü biyofilm üreticileridir. Pseudomonadların bozulma faaliyetleri, çoğunluk algılama (Quorum Sensing, QS) olarak bilinen hücreler arası iletişim sistemi ile ilişkilidir. QS sistemi, bakterilerin olumsuz koşullara maruz kaldıklarında ürettikleri moleküller aracılığıyla çoğunluklarını algılayarak patojenite ile ilgili genlerin kodlanmasından sorumludur. Pseudomonadların ette bozulma yapma mekanizmasının anlaşılması, gelişmelerinin engellenebilmesi için önemlidir. Et pseudomonadlarının QS sistemi hakkındaki araştırmalar oldukça sınırlıdır. Bu derleme çalışmasında et pseudomonadlarının biyoçeşitliliği, bozucu özellikleri, biyofilm oluşturma yetenekleri ve QS sistemlerinin, etin bozulma süreçleri üzerindeki etkileri tartışılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Biyofilm, et, *Pseudomonas*, çoğunluk algılama (Quorum Sensing, QS)

## BIODIVERSITY OF *PSEUDOMONAS*, SPOILAGE CHARACTERISTICS, BIOFILM PRODUCTION, AND QUORUM SENSING SYSTEM IN MEAT AND MEAT PRODUCTS

### ABSTRACT

The contamination of food by spoilage microorganisms and/or pathogens is a concern in the food industry. *Pseudomonas* species, Gram-negative, aerobic, and psychrotrophic bacteria, can develop in food products stored at low temperatures. The species causing spoilage in raw meat include *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, and *Pseudomonas lundensis*. Psychrotrophic pseudomonads cause bad odors, off-tastes, discoloration, and mucus production in raw meat stored

\* Sorumlu yazar/ Corresponding author

✉:yasemin.kucukata@izu.edu.tr

☎: (+90) 212 692 9647

Yasemin Şefika Küçükata; ORCID no: 0000-0002-2316-1507

Hasan Yetim; ORCID no: 0000-0002-5388-5856

Banu Metin; ORCID no: 0000-0002-3203-0058

under refrigeration and aerobic conditions. Some *Pseudomonas* species that develop in meats stored at low temperatures are strong biofilm producers. The spoilage activities of pseudomonads are linked to a cell-to-cell communication system known as quorum sensing (QS). The QS system is responsible for encoding genes related to pathogenicity by sensing population density through molecules produced under adverse conditions. Understanding the spoilage mechanisms of pseudomonads in meat is important for inhibiting their development. Research on the QS system of meat pseudomonads is limited. This review discusses the biodiversity, spoilage properties, biofilm formation abilities, and QS effects of *Pseudomonas* species on meat spoilage.

**Keywords:** Biofilm, meat spoilage, *Pseudomonas*, Quorum Sensing (QS)

## GİRİŞ

Et ve et ürünleri insan beslenmesinde önemli bir gıda grubudur. Son 50 yılda büyük ölçüde artan et tüketim pazarının 2020 yılındaki büyüklüğü 277.5 milyon metrik ton olarak değerlendirilmiş olup, 2027'de bu tüketim miktarının 292.92 milyon metrik tona ulaşması beklenmektedir. Sığır eti tüketiminin ise 2029'a kadar %12 artması öngörülmektedir (Nethra vd., 2023).

Taze et, mikrobiyel kontaminasyona karşı duyarlı bir gıda olup depolama, taşıma ve satış süreçleri et kalitesinin zamanla azalmasına yol açmaktadır (Wen vd., 2022). Ayrıca çiğ et hem gıdanın bozulmasından hem de gıda zehirlenmelerinden sorumlu olan çeşitli gıda kaynaklı patojenlerin kaynağıdır (Poursina vd., 2023). Ette gerçekleşen organoleptik bozulmanın gelişimi, etteki şekerler ve serbest aminoasitler gibi besin maddelerinin mikroorganizmalar tarafından tüketimi ve istenmeyen bazı uçucu metabolitlerin üretimi ile ilgilidir (Ercolini vd., 2010). Vakum ve modifiye atmosferde paketlenmiş çiğ ve/veya pişmiş et ürünlerinin yüzeyindeki değişiklikler, çok büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Et ve et ürünlerinin raf ömrünü kısaltan bozulma etkenleri ve artan tüketici gereksinimleri, gıda işletmecileri ve yetkililerin üzerinde durması gereken önemli bir konudur (Iulietto vd., 2015).

Et ortamıyla ilişkili mikroorganizmaların genel olarak *Enterobacteriaceae*, laktik asit bakterileri, *Brochothrix thermosphacta* ve *Pseudomonas* gruplarına ait olduğu bilinmektedir (Ercolini vd., 2010; Doulgeraki vd., 2012). Soğukta depolanan etlerde baskın olarak psikrofil ve psikrotrof bakterilerin olduğu gözlemlenirken aerobik koşullar altında saklanan et ve et ürünlerinde ise özellikle pseudomonadların hâkim flora olduğu rapor edilmektedir. Yapılan araştırmaların çoğu,

buzdolabı sıcaklığında aerobik olarak depolanan etlerdeki baskın bakteri cinsinin *Pseudomonas* türleri olduğunu göstermiştir (Wang vd., 2017).

*Pseudomonas* cinsinin günümüzde 240'tan fazla türe sahip olduğu bilinmektedir (Kolbeck vd., 2021). Et ve et ürünlerinde en yaygın üç *Pseudomonas* türü ise *P. fragi*, *P. fluorescens* ve *P. lundensis*'tir. Bu türler,  $10^7$ - $10^8$  kob/cm<sup>2</sup>'e ulaştığında, mukus ve kötü koku oluşumuna sebebiyet vermektedirler (Biohaz, 2016). Gıdalarda bozulmaya sebebiyet vermeleri her yerde yaygın olarak bulunmaları, psikrotolerant olmaları, lipaz ve proteaz gibi ekzoenzimler üretebilmeleri gibi özelliklere sahip olmaları yanında (Hoffman vd., 2019) bazı *Pseudomonas* türlerinin, üriner rahatsızlıklara da sebep olduğu ve bazı antimikrobiyellere direnç geliştirdiği de bildirilmektedir (Na vd., 2019).

Bakterilerin olumsuz çevre koşullarında oluşturdukları bir iletişim süreci olarak tanımlanan QS sistemi, patojenite için gerekli genlerin kodlanması ve kontrolünden sorumludur. Taze et ve et ürünlerinde bozulmaya sebebiyet veren pseudomonadların bu yeteneklerinin yakından incelenmesi, ette bozulmayı önleme ve gıda israfını azaltmaya yönelik çalışmalar adına büyük önem arz etmektedir.

Etin mikroflorası üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında üretim ve depolama sırasında meydana gelen mikrobiyel değişiklikler hakkında çok az bilgi olduğu dikkat çekmektedir. Bu nedenle farklı et ürünleri ve depolama şartlarında bozulmaya neden olan mikroorganizmaların karakterizasyonu önemlidir (Cauchie vd., 2020). Örneğin, günümüzde yapılan metagenomik çalışmalar, gıda güvenliği, gıdaların saklanması, mikrobiyel ekosistemlerinin araştırılması ve tanımlanması yönünde faydalı sonuçlar

vermektedir (Yı vd. 2016). Yine *Pseudomonas* türlerinin sebep olduğu bozulmaları en aza indirmek için et ve et ürünlerinin mikrobiyotasının önemli bir parçası olan pseudomonadların çeşitliliğinin araştırılması, karakteristiklerinin tam olarak anlaşılması, yeni tür ve suşlarla ilgili bilgilerin literatüre katılması gerekmektedir. Çoğunluk algılama veya hücreler arası iletişim olarak bilinen QS sistemi, pseudomonadların biyofilm oluşumu ve gıdaların bozulmasında önemli rol oynamaktadır. Bu derleme çalışmasında, et ve et ürünlerinde bozulmaya sebebiyet veren baskın *Pseudomonas* türleri ve bu türlerin bozucu özellikleri, biyofilm üretimi ve QS sistemi ve bu sistemin bozucu özellikler ile ilişkisi irdelenmiştir.

### ET VE ET ÜRÜNLERİNDE BOZULMA YAPAN *PSEUDOMONAS* TÜRLERİ

Taze et, bozulmaya neden olan çeşitli bakteri türlerinden (*Enterobacteriaceae*, *Yersinia* ve *Pseudomonas*) oluşan bir kompleks içermektedir (Salman vd., 2023). Etin ilk mikrobiyel yükü, kesim sırasında hayvanın fizyolojik durumu, kesimhaneye ve proses aşamalarındaki kontaminasyonlar ile dağıtım sırasındaki sıcaklık ve saklama koşulları etin bozulma oranını etkileyen en önemli faktörlerdir (Doulgeraki vd., 2012). Bu nedenle et ve et ürünlerinde bozulma yapan bakterilerin kontaminasyon rotalarının belirlenmesi önemlidir (Stellato vd., 2017). Karkas ve et, bozulma süreçlerine önemli ölçüde katkıda bulunan pseudomonadların en sık görülen kaynağıdır (Ercolini vd., 2010).

*Pseudomonadaceae*, her yerde bulunabilen, saprofit, bitki, hayvan ve insan patojenlerinden oluşan bir bakteri ailesidir. Floresan pigmenti oluşturma yeteneğine sahip pseudomonadlar sıklıkla karasal ve sulu ortamlarda bulunmakta ve gıda bozulmalarında da rol oynamaktadırlar (Arnaut-Rollier vd., 1999). *Pseudomonas* spp., 0.5–0.8 mm x 1.5–3.0 mm boyutlarında, spor oluşturmeyen, Gram negatif çubuk (basil) şekilli bakterilerdir. Tek veya çoklu polar kamçıya sahip olmaları nedeniyle hareketlidirler (Hossain, 2014). İlk olarak 1882 yılında farmakolog Carle Gessard tarafından keşfedilen *Pseudomonas* cinsi, kelime manası ile *pseudo* “sahte, yalancı”, *monas* “birimler”

anlamına gelmektedir. *Pseudomonas* türleri, 1984’te Alman botanist Walter Migula tarafından “Polar hareket organına sahip olan hücrelerdir.” şeklinde tarif edilmiştir (Anonim, 2012; Hossain, 2014).

Psikrotrof *Pseudomonas* türleri, aerobik olarak soğuk depolanmış etlerde bozulmaya sebebiyet veren en önemli mikroorganizmalardır (Wickramasinghe vd., 2019a). Yapılan bir çalışmada aerobik olarak paketlenen kuzu etinde depolama süreci boyunca *Pseudomonas* ve *Serratia*’nın rekabet içerisinde olduğu, 10 günlük depolamanın sonlarına doğru ise *Serratia* yoğunluğunun azaldığı, *Pseudomonas*’ın baskın tür olduğu gözlemlenmiştir. Bu da *Pseudomonas*’ın ortamdaki besini kullanabilme yeteneğinin daha iyi olduğu ve bu durumun *Serratia*’nın gelişmesini engelleyebildiği anlamına gelmektedir. Aynı çalışmada vakumla paketlenen kuzu etleri 28 güne kadar depolanmış ve depolama sürecinin 1., 5. ve 10. günlerinde anaerobik türlerin yanında *Pseudomonas* türlerine rastlanmıştır (Wen vd., 2022). *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* gibi bozulmaya sebep olan bakteriler, başlangıçta glukoz, glukoz-6-fosfat ve serbest aminoasitler gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler metabolize etmektedirler. Bu süreç sonucunda hücre sayısı artmakta ve etin pH değeri 5.5’ten 6.6’ya yükselmektedir. Bakteri sayısı  $10^8$  kob/cm<sup>2</sup>’yi aştığı anda, bozulma hızı artmaktadır. pH değerinin 6.6 olması ve oksijenin varlığı, *Pseudomonas*’ların hücre dışı proteaz ve lipazların üretimi ve aktivitesi için uygun bir ortam sunmaktadır (Nethra vd., 2023). *Pseudomonas* türlerinin ürettiği soğuk-aktif proteaz ve lipaz enzimleri domuz etinin yüksek düzeyde bozulmasına sebebiyet vererek domuz işleme endüstrisinde önemli bir problem haline gelmektedir (Dai vd., 2022). Bir çalışmada vakumlu paketlenen domuz etlerinin, oksijen geçirgenliği yüksek polietilen ile sarıldığında, mikrofloranın %78’ini *Pseudomonas*, kalan %22’sini ise *B. thermosphacta*’nın oluşturduğu rapor edilmiştir (Pellissery vd., 2020). Tavuk göğüslerinden izole edilen bakteri sayımında ise 0 ile 15°C arasında *Pseudomonas* spp.’nin baskın olduğu kaydedilmiştir (Spyrelli vd., 2021).

Taze ve bozulmuş et, inek sütü, keçi sütü, peynir, balık ve kümes hayvanlarından izole edilen psikrotrofların fenotipik ve moleküler karakterizasyonu sonucu dört ana *Pseudomonas* türünün baskın olduğu ortaya konulmuştur. Bunlar; *P. fragi*, *P. fluorescens*, *P. putida* ve *P. lundensis*'tir (Liao, 2006). *P. fragi* pigment üretmeyen bir tür iken *P. lundensis*, *P. fluorescens* ve *P. putida* pigment üreten türlerdir (Gill vd., 2014; Wickramasinghe vd., 2019b). *Pseudomonas* bozulmalarıyla ilişkili birçok aktivitenin türe ve suşa özgü olduğu bilinmektedir. Bozulmaların kaynağına odaklanmak için türlerin ve suşların iyi analiz edilmesi gereklidir (Stellato vd., 2017). Kritik suşların çevresel kontaminasyon kaynaklarını belirlemek ve azaltmak veya ortadan kaldırmak yüksek gıda bozulma potansiyeline sahip tür ve suşların ayırt edilmesi için önemlidir.

*Pseudomonadaceae* familyasındaki *Pseudomonas*'ların tür ayrımı için genellikle 16S rRNA geni kullanılmaktadır. 16S rRNA bölgesi, *Pseudomonas*'ların ve üç ana türde ayrılmasına olanak sağlar (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens* ve *P. pertucinogena*) (Lick vd., 2020). Bununla birlikte, genom içi heterojenlikler, *Pseudomonas* genomlarındaki 16S rRNA geninin izolatları tür ve suş düzeyinde ayırt etmesini pek mümkün kılmamaktadır. Bu nedenle, *Pseudomonas* izolatlarının tanımlanması için üç protein sentaz geninin *gyrB*, *rpoB* ve *rpoD* birleştirilmesine dayanan Multi Locus Dizi Analizi (MLSA) önerilmektedir (Duman vd., 2020; Girard vd., 2020). *Pseudomonas* türlerinin potansiyel olarak yüksek katma değere sahip çok çeşitli biyoaktif sekonder metabolitlerin üreticileri olduğu bilinmektedir (Girard vd., 2020). Bazı zenobiyotikleri degrade etme, bitkilerin büyümesini teşvik etme, floresan özellikleri, siderofor ve antibiyotik üretebilme gibi özelliklere sahip olması *Pseudomonas*'ın var olan türlerinin yakından araştırılmasına dikkat çekerken yeni türlerinin karakterize edilmesi de yine ilgi çekmektedir (Tchagang vd., 2018). Bu nedenle, *Pseudomonas* türleri çeşitli ortamlardan rutin olarak izole edilmekte ve karakterize edilmeye devam etmektedir (Lick vd., 2019). Sonuç olarak, *Pseudomonas* izolatlarının hızlı ve etkin bir şekilde

tanımlanabilmesi, ortamdaki oluşumlarının ve çeşitliliğinin izlenebilmesi önemlidir.

### ***Pseudomonas fragi***

Yapılan birçok çalışma, ette bozulma yapan en önemli *Pseudomonas* türünün *P. fragi* olduğunu göstermiştir (Arnaut-Rollier vd., 1999). *Pseudomonas fragi*, taze ve bozulmuş gıdalarla ilişkili doğal mikrofloranın düzenli ve önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Sığır etinde bulunan pseudomonadlarının %61'inin, domuz etindeki pseudomonadların ise %76-79'unun *P. fragi* olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte *P. fragi*'nin soğutulmuş tavuğun, süt ve süt ürünlerinin bozulmasında da önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Liao, 2006; Wang vd., 2017).

Hem taze hem de bozulmuş ette çok sık bulunan ve et ortamının mikrobiyel ekolojisinde önemli bir role sahip olan *P. fragi* için etin ekolojik bir niş olabileceği düşünülmektedir (Ercolini vd., 2010). *P. fragi* suşlarının büyük bir kısmı, ette hücre dışı proteazlar, lipazlar, ekzopolisakkarit mukus ve meyvemsi kötü kokular üretme yeteneğine sahiptir (Liao, 2006). Ürettiği enzimler sonucu kaslarda protein degradasyonuna neden olarak kas yıkımına yol açmaktadır (Stanborough vd., 2018). Yine lipolitik bakteriler arasında sayılan *P. fragi*'nin oluşturduğu bazı lipazlar, et yağını, 4°C ve 20°C'de hidrolize edebilmektedir (Oussalah vd., 2006). Mezofilik bakterilerde protein sentezinin başlaması 8°C'nin altında engellenebilirken, kıymadan izole edilen *P. fragi* K1 suşunun protein sentezine 0°C'de de devam ettiği tespit edilmiştir (Wickramasinghe vd., 2019a). Bu da bakterinin buzdolabı sıcaklıklarında gelişmesi ve düşük sıcaklıklarda dahi bozucu özellikler gösterme kabiliyetine devam ettiğini göstermektedir.

*Pseudomonas fragi*'nin aerobik ve soğuk koşullarda et ürünleri üzerinde yüksek oranda metil asetat ve etil asetat ürettiği gözlenmektedir. *Pseudomonas fragi* tarafından oluşturulan alkil esterler ve sülfür içerikli (dimetil sülfid) uçucu bileşikler sığır etlerinde kabak kokusuna benzer bir kokuya sebebiyet vermektedir (Stanborough vd., 2018). *P. fragi* inoküle edilmiş etlerde 2-bütanon, 3-carene, diasetil ve asetaldehit üretimine rastlanırken steril

olarak saklanan bozulmuş etlerde asetoin ve hekzanal üretimi görülmüştür. Ayrıca, *P. fragi* ile aşılanan etlerde, *P. putida* ile aşılama etlere kıyasla daha yüksek miktarlarda uçucu bileşikler bulunduğu rapor edilmiştir. Bu da uçucu bileşenlerin üretiminin bakterilerde türe bağlı olduğu durumunu desteklemektedir (Papadopoulou vd., 2020). Bu nedenle et ve et ürünlerinde en önemli bozucu etken olarak kabul edilen *Pseudomonas* türlerinin, gıdaları bozma yeteneklerinin türe bağlı olabileceği gibi suşa da bağlı olabileceği ve bunların alt tür düzeyinde çeşitliliğinin araştırılması, gıdalarda kontaminasyon ve bozulmanın gelişiminin aydınlatılması açısından önemlidir (Stellato vd., 2017).

*P. fragi*'nin sığır etinde aerobik, modifiye atmosfer paketlenme (MAP) ve vakum paketlenme (VP) dahil olmak üzere çeşitli paketlenme koşullarında depolanması sırasında hemen hemen tüm numunelerde gelişme gösterdiği kaydedilmiştir (Doulgeraki vd., 2012). Örneğin, Ercolini vd. (2007), yaptığı bir çalışmada steril sığır etini, *P. fragi*, *Serratia proteamaculans* ve *Carnobacterium maltaromaticum* ile inoküle etmiş ve vakum pakette, 7°C, 20°C ve 30°C'de bir ay boyunca saklamıştır. Genel olarak, mezofilik bakteriler 20°C ve 30°C'de hızlı bir gelişim gösterirken 7°C'de gelişimlerinin yavaşladığı tespit edilmiştir. Psikrotrofik *P. fragi* ise 30°C'de çok yavaş bir gelişme göstermiş ya da hiç gelişmemiştir. Bunun yanında 7°C koşulunda 0. günden itibaren 30. güne kadar gelişme göstermeye devam etmiştir (Ercolini vd., 2009). Vakumla paketlenmiş ette yaygın olan *P. fragi* suşlarının, oksidatif stresle ilgili genlerin prevalansının daha düşük olduğu, proteoliz ve aminoasit genlerinin ise daha yüksek prevalansa sahip olduğu görülmüştür. Buna karşılık, aerobik olarak depolanan ette bulunan suşların daha yüksek lipolitik potansiyele sahip olduğu görülmektedir (Wickramasinghe vd., 2019b).

Güçlü biyofilm üreticileri olduğu bilinen *Pseudomonas* türlerinin ürettiği biyofilm çoğunlukla protein ve polisakaritlerden oluşmaktadır (Pang ve Yuk, 2019). Et yüzeyine tutunmada en iyi bağlanma özelliği gösteren bozucu bakterinin

*Pseudomonas* türleri olduğu belirtilmektedir (Piette ve Idziak, 1991). Örneğin, 11 farklı bakteri türünün et üzerinde oluşturduğu biyofilm özellikleri ve ilişkili genlerin tespit edildiği bir çalışmada, oluşan biyofilmin %70'inden *P. fragi*'nin BF1 suşunun sorumlu olduğu belirlenmiştir. *P. fragi* BF1 suşu, biyofilm oluşumuyla ilişkili en yüksek sayıda genetik özelliğe sahip tür olarak tespit edilmiştir. Bu genler adhezyon, hareket, virülans faktörü (*mvfM*), aljinat üretimi ve selüloz metabolizması ile ilgilidir (Wagner vd., 2021). Yaygın bulunan, stresli koşullara dayanıklı ve çiğ et mikroflorasında baskın bir tür olarak kabul edilen *P. fragi*'nin suş bazında incelenerek daha ayrıntılı çalışmaların ortaya konulması gerektiği görülmektedir.

### ***Pseudomonas fluorescens***

*Pseudomonas fluorescens* ette bozulmaya sebep olan bir başka psikrotrof bakteri türüdür. *P. fluorescens*, taze ve bozulmuş gıdalarda sıklıkla *P. lundensis*, *S. putrefaciens*, *Psychrobacter immobilis* gibi diğer psikrotroflarla birlikte bulunmaktadır (Liao, 2006).

Bozulma yapan psikrotrof bakteriler, soğukta aktif olan proteaz ve lipaz üretme yeteneğine sahiptirler. Yapılan bir çalışmaya göre *P. fluorescens*'in bir suşunun ürettiği lipolitik enzimlerin aktivitesinin 5°C'de 20°C'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Salınan enzimler buzdolabı sıcaklıklarında birikerek düşük bakteri yüküne rağmen ürünün bozulmasına sebep olmaktadır (Wickramasinghe vd., 2019b). Bununla beraber *P. fluorescens*, visconsin adlı yüzey aktif lipopeptit üretebilmesi sayesinde tavuk etleri derisinde bulunan yağı degrade etme yeteneğine de sahiptir (Mellor, Bentley ve Dykes 2011). *P. fluorescens*'in özellikle pektolitik suşlarının, aerobik ve soğutma sıcaklığında depolanan taze ürünlerin bozulmasının %40'ından fazlasından sorumlu olduğu bildirilmektedir (Liao, 2006). Bunun yanında *Pseudomonas fluorescens*'in rekabetçi bir tür olduğu ve sıcaklık, depolama süresi ve besin bulunabilirliğinden bağımsız olarak çiğ ette *E. coli* gelişmesinin *Pseudomonas fluorescens* tarafından baskılandığı belirtilmektedir (Zhang vd., 2023b).

Biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olan *P. fluorescens*'in paslanmaz çelik yüzey ortamında dahi biyofilm üretmeye devam ettiği gözlemlenmiştir (Wang vd., 2018). *P. fluorescens*'in ürettiği uçucu bileşenlerin proteomik analizleri incelendiğinde patojen bakterilerin protein metabolizmalarını etkileyerek gelişimlerini engellediği rapor edilmiştir (Raza vd., 2016). Yine *Pseudomonas fluorescens*'in oluşturduğu bazı uçucu bileşiklerin, *Penicillium italicum* ve *Penicillium expansum*'un spor ve misel oluşumunu tamamen engellediği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Wang vd., 2021).

### ***Pseudomonas putida***

*Pseudomonas putida*, düşük sıcaklıklarda saklanan etlerde gelişebilen başka bir *Pseudomonas* türüdür. Bu tür, daha çok kanatlı etlerinde baskın olan bir tür olarak da bilinmektedir. Toprak ve tatlı sularda yaygın olarak bulunan *P. putida*'nın bakteriyosin benzeri moleküller üreterek ortamda bulunan *P. fragi*'yi inhibe ettiği tespit edilmiştir (Wickramasinghe vd., 2019b). *P. putida* besin yönünden zengin bir ortamda, 5-30°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında biyofilm oluşturabilmektedir (Morimatsu vd., 2012). Toprak kaynaklı patojen olarak da bilinen *P. putida*, biyodegradasyon ile zenobiyotikleri ve aromatik kirlilikleri metabolize edebilmesi ile de öne çıkmaktadır (Lopez-Sanchez vd., 2016).

### ***Pseudomonas lundensis***

Aerobik olarak depolanan soğutulmuş etlerin bozulmasına neden olan en belirgin *Pseudomonas* türlerinden bir tanesi de *P. lundensis*'tir. Yapılan bir çalışmada, güçlü proteolitik aktiviteye sahip olan *P. lundensis*'in soğutulmuş domuz etinin bozulmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Liu vd., 2015). Bununla birlikte *P. lundensis*; taze et ve balıklarda, pastörize ve UHT sütlerde ısıya dayanıklı hücre dışı proteaz ve lipazların üretimi ile yaygın olarak ilişkilendirilmektedir (Stanborough vd., 2018).

*P. fragi* ve *P. fluorescens* ile yakın olan *P. lundensis* ette kötü kokular ve mukus üretimine de sebep olmaktadır. Et üzerinde gelişen *P. lundensis* hücreleri oluşturdukları piyosyanin pigmenti ile ette yeşilimsi bir renk oluşumuna neden olurlar (Wickramasinghe vd., 2019b). Örneğin, 2-10°C

gibi düşük sıcaklıklarda gelişebilme ve 4-6 saat içinde yüzeye tutunarak, 24 saat sonunda da olgun biyofilm oluşturabilme yeteneğine sahip olması, gıda bozulmaları açısından *P. lundensis*'in önemli bir tür olduğunu göstermektedir (Liu vd., 2015).

Kendi türleri içinde ve diğer türlerle güçlü rekabet etme yeteneğine sahip pseudomonadların tür ve suş bazında, biyokontrol aktivitelerinin incelenmesi gıdaların korunması veya raf ömrünün uzatılması açısından önemlidir.

## **PSEUDOMONAS TÜRLERİNİN BİYOFİLM ÜRETME YETENEĞİ**

Pseudomonadların tür seviyesindeki biyoçeşitliliği, kontaminasyonun ana kaynağı olan gıda işleme veya üretim ortamına kolonize olabilmeye kabiliyeti ile yakından alakalıdır. Farklı *Pseudomonas* türleri ve biyotipleri, gıda ile temas eden yüzeylerin ve aletlerin rutin temizliğine karşı direnç ve biyofilm oluşturma kapasiteleri ile karakterize edilebilmektedir (Stellato vd., 2017). Biyofilm, bakterileri çevrenin zararlı etkilerinden koruyan ve hücreler arası iletişimin bir sonucu olan, bir veya birkaç bakteri türünden oluşan canlı, sürekli yenilenen bir polimerik matriks ile çevrili bir topluluktur (Mayansky vd., 2012). Biyofilmler, gıdalarda kalıcı olarak düşük seviyeli kontaminasyona neden olmakta ve biyofilmde bulunan gıda kaynaklı patojenlerin varlığı gıda güvenliği endişelerine neden olmaktadır (Annous vd., 2009). Gıda işleme ortamında biyofilm, mikroorganizmalar için bir hayatta kalma mekanizmasıdır. Mikroorganizmalar düşük sıcaklık, farklı nem oranı, besin çeşidi gibi değişiklikler ve düzenli dezenfeksiyon prosedürleri gibi çok sayıda stres faktörüyle karşı karşıya kalmaktadır (Brooks ve Flint, 2008). Planktonik bakterilere kıyasla, biyofilm oluşturan bakteriler, yerinde temizleme sistemleri, enzimlerin elimine edilmesi, ultrason ve irradiasyon gibi yaygın dekontaminasyon yöntemlerine karşı direnç gösterebilmektedir (Zhang vd., 2023b). Bunun sonucunda, bakterilerin kendilerini koruma altına aldıkları bu biyofilm ortamı, gıda endüstrisi için her yıl çok büyük mali kayıplara yol açmaktadır (Wagner vd., 2021).

Et endüstrisinde tanımlanan bakterilerin yaklaşık %90'ının biyofilm oluşturabildiği ve bunun et endüstrisinde yılda yaklaşık 150 milyon dolarlık bir ekonomik kayba yol açtığı belirtilmektedir (Rather vd., 2022). Taze et ve et ürünlerinin soğuk zincir ortamında saklanması ve dağıtılması gerekmektedir. Et ortamında baskın olan bakteriler, düşük sıcaklığa uyum sağlamaya zorlanmakta ve soğuk şoka tepki yolları geliştirmektedir. Bunun sonucunda bozulma dönemi boyunca glikoliz ve piruvat yolları korunmakta ve bakteriyel gelişim devam etmektedir (Shao vd., 2021).

Yapılan çalışmalar, pseudomonadların düşük sıcaklıklarda yüzeyde mukus tabakası oluşturduğunu göstermektedir. Üretilen bu tabaka, bakteri hücrelerini çevreleyen ve çevresel stresten kurtulmasına yardımcı olan bir matrikstir. Bu matriks esas olarak polisakkarit, protein, lipid ve hücre dışı DNA'dan (eDNA) oluşan hücre dışı polimerik maddelerden oluşmaktadır (Sharma vd., 2014). Bir yüzeye tutunduktan sonra gelişen bakterilerin ürettiği bu ekzopolisakkaritler, olgunlaşarak biyofilm tabakası haline gelmekte ve bu tabaka yeni yüzeylere yayılmak için tutunma yüzeyinden ayrılmaktadır (Morimatsu vd., 2012).

*Pseudomonas* türlerinin etin yüzeyine tutunmada en iyi bağlanma özelliği gösteren bakteri türlerinden olduğu belirtilmektedir. *P. fluorescens* ve *Acinetobacter*'in durulamadan sonra da et yüzeyinde kaldığı, *Lactobacillus* hücrelerinin ise kalmadığı Piette ve Idziak (1989) tarafından incelenerek gösterilmiştir.

Biyofilmler, genel olarak gıdalarda sıkıntıya sebebiyet vermenin yanı sıra ev tipi su arıtma cihazlarındaki karbon filtreler veya membranlarda da özel bir sorun teşkil etmektedir. *Pseudomonas* spp.'nin metabolizmalarını yavaşlatma yeteneği, şişelenmiş içme sularında oluşturdukları biyofilm matrisleri içinde aylarca hayatta kalmalarını sağlamaktadır (Hossain, 2014). Gıda işleme sırasında oluşan biyofilmin *Pseudomonas* ile kontamine olmuş su, el ve gıdanın temas ettiği materyallerden kaynaklandığı kabul edilmektedir (Carpentier, 2009).

Kırmızı et ve balık etlerinde yaygın olarak görülen *P. lundensis*'in düşük sıcaklıklarda biyofilm oluşturduğu rapor edilmiş, *P. lundensis*'in ürettiği bu biyofilmin, patojen ve bozulma yapan diğer bakterilerin de barınmasını sağlayarak gelişimlerini desteklediği raporlanmıştır (Wickramasinghe vd., 2019b). *P. putida*'nın dikey beslemeli su borularında bir gün içerisinde 4.3 cm'e kadar biyofilm oluşturabildiği tespit edilmiştir (Carpentier, 2009). Yapılan başka bir çalışmada *P. putida*'nın oluşturduğu biyofilmin yüksek sıcaklıklarda viskozitesinin azaldığı ve biyofilm tabakasının ayrılmaya yöneldiği gözlemlenmiştir. Sıcaklığın düşürülmesinde ise çevresel stresi daha iyi tolere etmek için bakterilerin bağlantı yüzeyinde bağlı kaldığı rapor edilmiştir (Morimatsu vd., 2012). Türler arası biyofilm etkinliğinin incelendiği bir çalışmada, somon balığına *P. fluorescens* ve *L. monocytogenes* birlikte inoküle edilmiştir. İnkübasyon (15°C) sonucu her iki türün de biyofilm oluşturma kapasitelerinin arttığı görülse de *L. monocytogenes*'in hücre yoğunluğunun azaldığı ve *P. fluorescens*'in biyofilm hücre popülasyonunda %90 baskın tür olduğu tespit edilmiştir. Bu da iki farklı tür arasında güçlü rekabet yeteneğine sahip *Pseudomonas*'ın *L. monocytogenes* üzerindeki avantajını açıkça göstermektedir (Pang ve Yuk, 2019). Et patojeni olarak kabul edilen *L. monocytogenes* ve ette major bozulma yapıcı etken olarak kabul edilen *Pseudomonas* türlerinin, biyofilm oluşturma yeteneklerinin düşük sıcaklıklarda artabildiğini de gösteren bu çalışma, et ve et ürünlerindeki kayıpları önlemek için bu mikroorganizmaların engellenmesi üzerine stratejiler oluşturulması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Ekipmanlar, aletler, kesme tahtaları, el ve eldivenlerin et ile herhangi bir teması sonucu bakteriyel transfer gerçekleşebilmektedir (Carpentier, 2009). Biyofilm hücrelerinin et ürünlerine transferi; et ürününün türüne, kültür ortamına, hücrelerin yapısına, bağlanma gücüne ve ekzopolisakkarit üretimine bağlı olarak bunlardan etkilenmektedir (Pang ve Yuk, 2019).

Dezenfektanlara karşı direnç kazanma, güçlü biyofilm oluşumu ve bakteriyel tutunma, taze ürünler için sanitasyon işlemlerinin etkinliğini

azaltmaktadır. Biyofilm yapısında yer alan bakteriler genellikle antimikrobiyellere karşı da daha dirençli olmaktadır. Bu direncin mekanizması türden türe değişebilmektedir (Sala vd., 2012). Biyofilm oluşturan türlerin antimikrobiyellere direnç mekanizması; (1) antimikrobiyel ilaçların oluşan biyofilmlere nüfuz etmesinin zor olması, (2) biyofilmdaki antibiyotığın deaktive edilebilmesi ve (3) antibiyotiklerin biyofilm matrisine adsorbe olabilmeye yetenekleri ile açıklanmaktadır (Sharma vd., 2014). Yapılan çalışmalarda paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşumundan sorumlu olan *P. aeruginosa*, *P. fragi* ve *Salmonella Typhimurium*'un dezenfektanlara karşı toleransının arttığı rapor edilmiştir (Liao, 2006). Diğer taraftan domuz karkasından izole edilen *P. aeruginosa* ve *P. putida*'nın farklı antibiyotiklere direnç gösterdiği de bulunmuştur (Sala vd., 2012).

Biyofilm oluşumunun önüne geçilmesi için ilk olarak temizlikte kullanılan suyun kalitesi ve sterilitesi önemlidir. Buna ek olarak kullanılan alet ve ekipmanın temizliğine ve işlem proseslerinin düşük sıcaklıklarda gerçekleşmesine dikkat edilmelidir (Carpentier, 2009). Bulaşmaları önlemek için, polisakkarit matrisinin parçalanması ve yeni teknikler kullanılarak bakterilerin biyofilmlerden arındırılması gerekmektedir (Sharma vd., 2014).

Bu konuda diğer önemli husus da çoğunluk algılama (Quorum Sensing, QS) sistemidir ve bu sistem biyofilm oluşumunda rol oynayan önemli bir biyo-sistemdir (Sharma vd., 2014). Soğutulmuş et ürünlerindeki bakteriyel proteolitik aktivite ve biyofilm, farklı karbon zincir uzunluklarına sahip otoindüklileyici adı verilen moleküller ile ilişkilendirilmektedir (Salman vd., 2023). Bakterilerin çoğunlukta buldukları ortamda ürettikleri otoindüklileyiciler ile birbirleriyle iletişim kurduğu ve gen ekspresyonunu düzenlediği hücreler arası bir sinyalleşme sistemi olan QS gelecek bölümde detaylı olarak verilmiştir.

Gıda işleme yüzeyleri veya aletlerinde bulunan mikroorganizmalara gıda mikrobiyota analizlerinde rastlanması, gıda işlem basamaklarının ve ekipmanlarında hijyen

sağlanmasının önemini göstermektedir. Temizlik prosedürleri ve personel hijyen eğitimleri taze ette biyofilm geliştirme ve yüzeylere yapışma yeteneğine sahip olan pseudomonadların engellenmesi ve etkin mikrobiyolojik kalitesi için büyük öneme sahiptir.

### **PSEUDOMONAS TÜRLERİNDE ÇOĞUNLUK ALGILAMA (QUORUM SENSING - QS) SİSTEMİ**

QS sistemi, bakterilerin farklı çevresel koşullara maruz kaldıklarında aralarında oluşturdukları bir tür iletişim sürecidir. Bakteriler, birbirleri ile iletişim için otoindüklileyiciler (autoinducers, AI) adı verilen düşük yoğunluklu, küçük ve yayılabilir sinyal molekülleri kullanmaktadırlar (İnat vd., 2021). Tek bir bakteri suşunda birden fazla otoindüksiyon sistemi bulunabilmektedir (Fuqua vd., 1994).

Bakteriler arasındaki etkileşim, hücre yoğunluğuna bağlı olarak spesifik gen ekspresyonunu koordine etmek için gerçekleştirilmektedir. Patojenisite nitelikleri için gerekli genlerin kodlanması ve kontrol edilmesinden sorumlu olan QS sistemi, mikroorganizmalar arası bir kontrol ağıdır (Osman, 2019). Patojenik bakteriler etraflarındaki hücre yoğunluğunu algılayarak hareket, biyofilm ve çeşitli patojenitelerini kontrol etmeye QS sistemini kullanmaktadır (Yin vd., 2022). Yine farklı QS sistemleri, bakterilerin türe özgü ve/veya türler arası senkronize grup davranışlarını yönetmesini de sağlamaktadır.

Bakteri türüne bağlı olarak, QS tarafından düzenlenen fizyolojik süreçler, farklı bakteri türlerinde ikincil metabolit üretimi, plazmit transferi, biyo-ışıldama (biyoluminesans), hareketlilik, biyofilm oluşumu ve diğer virülens faktörlerle ilgili genlerin ekspresyonunun kontrolünde rol oynamaktadır (Diggle vd., 2007). Virülens genlerinin düzenlenmesinin, rekabet edilen mikroorganizmalar üzerinde bir avantaj sağladığı ve organizmanın patojenisitesi için önemli olduğu düşünülmektedir (Smith ve Iglewski, 2003). Pseudomonadlarda biyofilm oluşum aşamalarının tümü de yine QS ile ilişkilendirilmektedir (İnat vd., 2021).



Gram negatif bakterilerde, tür içerisindeki iletişim çoğunlukla otoindükleyici-1 (AI-1) olarak kategorize edilen açıl homoserin laktonlar (AHL) tarafından sağlanırken (Liu vd., 2006), Gram pozitif bakterilerde en sık gözlenen otoindükleyiciler oligopeptitlerdir (Monnet ve Gardan, 2015). Bakterilerin artan popülasyon yoğunluğu ile AHL konsantrasyonu yükselebilmektedir. Her bir hücre düşük seviyelerde AHL üretiyor olsa da birden fazla koloni toplamda daha yüksek konsantrasyonda AHL sentezlemektedir. Konsantrasyon belli bir miktara ulaştığında, AHL sinyali bir transkripsiyon faktörü ile etkileşime girmekte ve böylece QS ile düzenlenen genlerin ekspresyonu modüle edilmektedir (Fuqua vd., 2001). Genellikle, yüksek miktarda AHL salgılayan bakterilerin daha güçlü çevresel tolerans ve rekabet yeteneği sergileme eğiliminde oldukları bilinmektedir. İlk kez deniz kökenli, lüminesans bir bakteri olan *Vibrio fischeri*'de tanımlanan AHL, LuxI ve LuxR adlı iki proteine bağlı olarak üretilmektedir (Bassler vd., 1997). Buna ek olarak LuxM, HdtS enzimleri ile AHL sentezleyen 90 bakteri türü keşfedilmiştir (Khalid vd., 2021). LuxI proteini AHL sentezinden sorumlu sitoplazmik bir enzimdir. AHL miktarı belirli düzeye geldiğinde AHL ile LuxR proteini interaksiyona geçmektedir. LuxR-AHL kompleksi, QS tarafından düzenlenen ve ekspresyonları sağlanan genlerin DNA üzerindeki spesifik promotör dizilerine bağlanabilmektedir (Venturi, 2006). Genel anlamda, QS sistemleri, QS sinyalleri üreten, bağlayan ve gen ekspresyonunu yeniden programlayan proteinlerden oluşmaktadır (Pena vd., 2019).

Tıbbi öneme sahip bir bakteri olan *P. aeruginosa*'nın QS sistemi, bakterilerde en iyi anlaşılan iletişim sistemlerinden biridir. *P. aureginosa* Las ve Rhl olarak iki farklı AI-1 QS sistemi içermektedir. Las sisteminde LasI, AI-1 grubuna ait N-(3-oxododecanoyl) homoserin lakton (OdDHL) otoindükleyicilerin sentezlenmesini yönetmektedir. Sentezlenen AHL transripsiyonel aktivatör protein olan LasR ile bağlanmakta ve ilgili genlerin transkripsiyonunu başlatmaktadır. Rhl sistemi de benzer olarak transkripsiyonel aktivatör protein

RhIR'den, N-butiril homoserin lakton (BHL) sinyallerinin sentezini yöneten otoindükleyici sentaz RhII'den oluşmaktadır (Glessner vd., 1999; Chen vd., 2005). Bunun yanında kendi türüne özgü olan 2-heptil-3-hidroksi-4-kinolon (*Pseudomonas* Quinolone Signal, PQS) üretimi de yapmaktadır (Ma vd., 2021). *P. aeruginosa*'nın sahip olduğu otoindükleyici üretim sistemi, bilinen ve bilinmeyen yüzlerce hedef genin ekspresyonunu kontrol etmektedir (Schuster ve Greenberg, 2006).

Bir başka otoindükleyici molekül hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilerde belirlenmiş olan evrensel bir sinyaldir ve tür içine ek olarak türler arası iletişimde de rol oynamaktadır (Chen vd., 2020; Pereira vd., 2013). AI-2 sinyal molekülü, bakteriler arasındaki sinyal alışverişine aracılık edebilen, spesifik olmayan bir otoindükör olarak düşünülmektedir (Li ve Zhao, 2020). AI-2 (furanosil borat diesterler) sentezinden *luxS* geninin sorumlu olduğu bilinmektedir (Ferrocino vd., 2009).

Et ile ilişkili *Pseudomonas* türlerinin QS sistemine yönelik çalışmaların oldukça kısıtlı olduğu görülmektedir. İnat vd. (2021)'nin yaptığı bir çalışmada kıymadan ve tavuk etinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında QS'in bozulma ve slime üretimi ile de yakından ilgili olduğu, *Pseudomonas* konsantrasyonları yaklaşık  $10^8$  ila  $10^9$  kob/g'a ulaştığında, et yüzeyinde AHL konsantrasyonlarının yüksek düzeylere çıktığı gösterilmiştir (İnat vd., 2021). Soğukta saklanan tatlı su balıklarından izole edilen psikrotrofik *P. psychrophila* PSPF19'un QS regülasyonunun araştırıldığı bir çalışmada, AHL sinyal moleküllerinin proteolitik ve lipolitik enzim üretimini, bakterinin yüzeye bağlanmasını ve biyofilm oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (Bai ve Rai Vittal, 2014). Domuz etinden izole edilen *P. koreensis* PS1 suşunun dışardan eklenen AHL ile çoğalmasının arttığı, biyofilm üretiminde %33'lük, proteolitik aktivitesinde ise %16'luk bir artış gözlemlenmiştir (Dai vd., 2022). *P. fluorescens*'da ve *P. putida*'da çeşitli AHL üretimleri ve bu AHL'leri üreten sentaz genleri ile reseptörler belirlenmiştir (Laue vd., 2000; Bertani ve Venturi, 2004; Liu vd., 2007; Wang ve Xie, 2020; Zhao vd. 2016). Li vd.,

(2019)'un yaptığı bir çalışmada dışardan eklenen farklı AHL'ler *P. fluorescens*'in biyofilm üretimini arttırmakla kalmamış biyofilm kalınlığını da arttırmıştır. Diğer et *Pseudomonas*'larından *P. lundensis*'te ise QS ile ilgili bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Bununla birlikte biyofilm oluşturma kabiliyeti bilinmektedir (Liu vd., 2015; Wickramasinghe vd., 2019a; Wickramasinghe vd., 2021). Paketleme koşulları ve farklı sıcaklıkların QS sistemi üzerindeki etkisine bakıldığı bir çalışmada MAP ile paketlenen etlerde *Enterobacteriaceae*'nin önemli miktarda azaldığı tespit edilse de bu koşullarda laktik asit bakterilerinin baskın olduğu, 10°C ve 15°C depolamada ise pseudomonadların dominant hale geldiği kaydedilmiştir. Oluşturulan AHL sinyallerinin ise zamana bağlı olarak artış gösterdiği ve uzun süreli depolamada indüksiyonunun arttığı belirtilmiştir (Blana ve Nychas, 2014). Çeşitli gelişmiş ambalaj sistemleri bulunsa da genellikle bu sistemlerin maliyeti etin perakende satışı için uygun değildir (Mohan vd., 2019).

Kırmızı ette en yaygın gözlenen *Pseudomonas* olan *P. fragi*'nin ise AHL oluşturmadığı, etten izole edilen 72 suş ile yürütülen bir çalışmada saptanmıştır (Ferrocino vd., 2009). Aynı çalışmada AHL tespit edilmediği gibi, dışarıdan eklenen AHL'ye yanıt da izlenmemiştir. Başka bir çalışmada, *P. fragi*'nin genomunda AHL sentetaz geninin bulunmadığı tespit edilmiştir (Quintieri vd., 2021).

Et kaynaklı *Pseudomonas* türlerinin AHL üretme yeteneğinin *Aeromonas*, *Acinetobacter* ve *Serratia* gibi diğer et kaynaklı bozucu türlere kıyasla daha düşük olduğu bilinmektedir (Dai vd., 2022). AHL üretmediği tespit edilen *Pseudomonas*'ların *luxS* genine sahip olmadığı Ferrocino vd. (2009) ve Quintieri vd. (2021) tarafından belirtilmiştir. Ancak *P. fragi* suşları süpernatantlarının, *Vibrio harveyi* AI-2 biyosensör suşunda biyoluminesans yayılımını teşvik ettiği gözlenmiştir (Ferrocino vd., 2009). Bu durum, indirekt bir yöntemle AI-2 üretiminin tespiti anlamına gelmektedir. Benzer şekilde, *P. fluorescens* süpernatantları da yine söz konusu *V. harveyi* suşunda biyoluminesans yayılımına sebep olmuştur (Wang ve Xie, 2020; Zhao vd. 2016). Bu durum, *P. fragi*'nin ve *P.*

*fluorescens* gibi bazı *Pseudomonas* türlerinin LuxS'ten bağımsız bir yolla AI-2 üretebildiklerini göstermektedir. Tıbbi öneme sahip *P. aeruginosa*'da ise AI-2 üretimine rastlanmamıştır. Bununla beraber, dışarıdan eklenen AI-2'ye tepki verdiği gözlenmiştir (Li vd., 2017; Duan vd., 2003). Dışarıdan eklenen AI-2'nin *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumunu ve çeşitli virülens faktörlerini artırdığı ve yine fare deneylerinde patojenisiteyi artırarak ölüm oranını yükselttiği gözlenmiştir (Li vd., 2017). Özellikle kistik fibrozlu hastaların akciğerlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*'nın tedaviyi zorlaştıracak şekilde dokulara yerleşmekte ve biyofilm oluşturduğu bilinmektedir (Zhang vd., 2023b).

QS sinyal molekülleri (AHL'ler ve AI-2) balık, kümes hayvanları, et ve sebze dahil olmak üzere çok çeşitli gıdalarda tespit edilmiştir. Bununla birlikte, gıda bozulma mekanizmasına katkılarının açıklığa kavuşturulması için QS'in mikrobiyel bozulma ile ilişkisine ilişkin geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır (Blana ve Nychas, 2014). *P. aeruginosa*'nın QS sistemi ve ilgili virülans faktörlerin, insan kaynaklı izolatlarda kapsamlı bir şekilde incelendiği görülürken gıda kaynaklı pseudomonadlarla ilgili yeterli bilimsel veri olmadığı görülmektedir.

QS araştırmalarının gıdalar ile ilişkisinin temel noktası, mikrobiyel olarak QS mekanizmasının işleyişini belirlemek olup, bu sistemi engelleme ya da mekanizmanın işleyişini bozma gibi işlemler ile mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulmasına olanak sağlanmasıdır. Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmalarda hücrelerarası iletişimin engellenmesi ile ilgili mekanizmalar "Quorum Quenching" (QQ) olarak adlandırılmaktadır (Gülgör ve Korukluoğlu, 2014). QQ, patojenlerin önlenmesi ve kontrolü için çok önemli olan QS sistemini yok ederek patojenlerin patojenisitesini azaltmaktadır. Bu strateji patojenleri öldürmeden virülansı azaltarak, patojenler üzerindeki baskıyı zayıflatmakta ve QQ aracılı antibiyotik direnç gelişimini geciktirmekte ya da azaltmaktadır (Zhang vd., 2020). Bu nedenle bakteriyel QS sistemini küçük moleküllerle kesintiye uğratmak, patojeniteyi ve biyofilm oluşumunu önlemek için umut verici bir stratejidir

(Ma vd., 2021). Ancak bunların gıda sistemi ve prosesindeki sınırlı uygulamaları, yeni ve doğal QS inhibitörlerinin keşfedilmesini gerektirmektedir.

Bakterilerde hücreler arası iletişimin gıda bozulması ve gıda güvenliğindeki potansiyel rolünün kapsamlı bir şekilde araştırılarak açıklanması gereklidir. Elde edilecek bilgilerin, iletişim sistemlerini manipüle etmek için yeni yaklaşımların tasarlanmasına yardımcı olarak bozulma reaksiyonlarını azaltmayı veya tamamen önlemeyi sağlayacağı düşünülmektedir. Yine Pseudomonadların QS aracılı virülansının altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması, bu bakterilerin bozulma yapma potansiyelinin tam olarak aydınlatılmasına da yardımcı olacaktır.

## SONUÇ

Gıda ortamı, bozulma süreçlerine önemli ölçüde katkıda bulunan *Pseudomonas* türlerinin en sık görülen kaynağıdır (Ercolini vd., 2010). Özellikle soğutulmuş etlerin bozulmasında, kötü koku ve tatlardan, renk bozulmasından, gaz ve mukus üretiminden sorumlu bakteriler arasında *Pseudomonas* türleri öne çıkmaktadır (Oussalah vd., 2005). Düşük sıcaklıklarda metabolik süreçlerini devam ettirme yeteneği olan pseudomonadların, etleri bozma sürecinin temelini anlamak bu nedenle çok önemlidir (Wickramasinghe vd., 2019a).

Gıdalarda *Pseudomonas* hücre sayısı,  $10^7$  ila  $10^8$  kob/cm<sup>2</sup>'ye ulaştığında kötü kokular oluştuğu tespit edilirken,  $10^8$  kob/cm<sup>2</sup> ve daha yüksek seviyelerde de mukus oluşumuna rastlanmaktadır. Psikrotrofik pseudomonadlar güçlü biyofilm oluşturan mikroorganizmalardır. Ürettikleri biyofilmin bozulma sürecinde ve davranışında anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir (Wickramasinghe vd., 2019a). Bunun yanında bazı türlerinin lipaz ve proteaz enzimleri üretebilme yeteneğine sahip olması, pseudomonadların ette hızlı bir şekilde kolonize olmasını ve etin bozulmasını sağlamaktadır (Pellissery vd., 2020). Yine yapılan birçok çalışma pseudomonadların sahip olduğu QS sisteminin mikrobiyel bozulmada önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir (Schuster ve Greenberg, 2006;

Fuqua vd., 2001; Blana ve Nychas, 2014; İnat vd., 2021).

Taze etin *Pseudomonas* çeşitliliği üzerinde yapılan çalışmalar, aynı türün farklı suşlarının, aynı gıda matrisi ve saklama koşullarında farklı davranabileceğini göstermiştir (Stellato vd., 2017). Hem taze ve hem de bozulmuş etlerde çok sık bulunan ve et ortamının mikrobiyel ekolojisinde baskın olan dört *Pseudomonas* türünün (*P. fragi*, *P. fluorescens*, *P. putida* ve *P. lundensis*) olduğu ortaya konulmuştur (Liao, 2006). Özellikle *P. fragi*'nin et için ekolojik bir niş olabileceği düşünülmektedir. Genel olarak, paketlenme koşullarına bakılmaksızın çiğ etin aerobik olarak depolanması sırasında baskın olarak *P. fragi*'nin yanında diğer *Pseudomonas* türlerine de rastlanmaktadır (Doulgeraki vd., 2012). *P. lundensis* ise *P. fragi*'den sonra ette bozulmaya sebebiyet veren dominant *Pseudomonas* türlerinden biridir. *P. fluorescens* suşlarının, aerobik ve soğutma sıcaklığında depolanan taze ürünlerin bozulmasının başlıca nedeni olduğu belirtilmektedir (Liao, 2006; Liu vd., 2015). Gıda temas yüzeylerinde biyofilm oluşturma yeteneğine sahip *Pseudomonas*'ların ürettiği biyofilm dezenfektanlara direnç gösterme, sürekli bir çapraz bulaşma noktası oluşturmakta olup, bu durum et ve et ürünlerinin bozulmasına yol açabilmektedir (Mohammed vd., 2023). Bu nedenlerle ette *Pseudomonas* çeşitliliğinin, ekolojisinin ve bu türlerin bozucu özelliklerinin incelenmesi, bozulma dinamiklerinin iyi anlaşılması açısından son derece önemli olmakla birlikte bu bakterilerin biyokontrol etki mekanizmalarının anlaşılması, verimli ve başarılı biyokontrol stratejileri geliştirmek için önemlidir (Raza vd., 2016). Gıdaların bozulma sürecinde QS'nin önemli bir yere sahip olması bakteriyel iletişimi araştırmayı önemli bir konu haline getirmektedir (Bai ve Vittal, 2014). Bozulmaya neden olan bakterilerde QS sinyalinin engellenmesi, bozulma faktörlerinin ekspresyonunu ve biyofilm oluşumunu önleyerek gıdaların raf ömrünün uzatılabileceği ön görülmektedir (Salman vd., 2023). Hücreden hücreye iletişimin gıda bozulması ve gıda güvenliğindeki potansiyel rolünün kapsamlı bir şekilde açıklanması ve bu bilgilerin, iletişim sistemlerini manipüle etmek için yaklaşımların

tasarlanması ile bozulma reaksiyonlarını azaltmayı veya önlemeyi sağlayacağı düşünülmektedir.

Ette mikrobiyel gelişim ile ilgili mevcut çalışmaların genellikle az sayıda mikroorganizma türüne yoğunlaştığı görülmektedir. Aynı türün farklı suşları dahil olmak üzere, ette gelişen *Pseudomonas* çeşitliliği, bozulma yapma faaliyetleri ve türler arası iletişim sistemi hakkında yapılacak çalışmalar, uygun depolama koşulları sağlanarak kontaminasyonun önlenmesi sonucunda etin raf ömrünün uzatılabilmesine olanak verecek ve mikrobiyel faaliyetleri engellemek için tür ve suşların daha iyi tanınmasını sağlayacaktır.

#### KAYNAKLAR

- Annous, B. A., Fratamico, P. M., Smith, J. L. (2009). Scientific Status Summary. *Journal of Food Science*, 74(1), R24–R37. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.01022.x>
- Anonim, (2012). Etymologia: *Pseudomonas*. *Emerg Infect Dis*. 2012 Aug; 18(8): 1241. doi: 10.3201/eid1808.ET1808
- Arnaut-Rollier, I., Vauterin, L., de Vos, P., Massart, D. L., Devriese, L. A., de Zutter, L., van Hoof, J. (1999). A numerical taxonomic study of the *Pseudomonas* flora isolated from poultry meat. *Journal of Applied Microbiology*, 87(1), 15–28. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00785.x>
- Bai, A. J., Rai, V. R. (2011). Bacterial Quorum Sensing and Food Industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(3), 183–193. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00150.x>
- Bassler, B., Greenberg, E. P., Stevens, A. M. (1997). Cross-Species induction of luminescence in the quorum-sensing bacterium vibrio Harveyi. *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*, 179(12), 4043–4045. <https://journals.asm.org/journal/jb>
- Bertani, I., Venturi, V. (2004). Regulation of the N<sup>-</sup>Acyl Homoserine Lactone-Dependent Quorum-Sensing System in Rhizosphere *Pseudomonas putida* WCS358 and Cross-Talk with the Stationary-Phase RpoS Sigma Factor and the Global Regulator GacA. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(9), 5493–5502. <https://doi.org/10.1128/aem.70.9.5493-5502.2004>
- Biohaz (2016). Growth of spoilage bacteria during storage and transport of meat. *EFSA Journal*, 14(6). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4523>
- 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, 1-8.
- Carpentier, B. (2009). Biofilms in red meat processing. *Biofilms in the Food and Beverage Industries*, 375–395. <https://doi.org/10.1533/9781845697167.4.375>
- Cauchie, E., Delhalle, L., Taminiau, B., Tahiri, A., Korsak, N., Burteau, S., Fall, P. A., Farnir, F., Baré, G., Daube, G. (2020). Assessment of spoilage bacterial communities in food wrap and modified atmospheres-packed minced pork meat samples by 16S rDNA metagenetic analysis. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03074>
- Chen, C. C., Riadi, L., Suh, S. J., Ohman, D. E., Ju, L. K. (2005). Degradation and synthesis kinetics of quorum-sensing autoinducer in *Pseudomonas aeruginosa* cultivation. *Journal of Biotechnology*, 117(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.01.003>
- Chen, X., Yu, F., Li, Y., Lou, Z., Toure, S. L., Wang, H. (2020). The inhibitory activity of p-coumaric acid on quorum sensing and its enhancement effect on meat preservation. *Cytotechnology of Food*, 18(1), 61–67. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1701558>
- Dai, J., Li-Min, F., Wu, Y., Liu, B., Cheng, X., Yao, M., Huang, L. (2022). Effects of exogenous AHLs on the spoilage characteristics of *Pseudomonas koreensis* PS1. *Journal of Food Science*, 87(2), 819–832. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16038>
- Diggle, S. P., Matthijs, S., Wright, V. J., Fletcher, M. P., Chhabra, S. R., Lamont, I. L., Kong, X., Hider, R. C., Cornelis, P., Cámara, M., Williams, P. (2007). The *Pseudomonas aeruginosa* 4-Quinolone Signal Molecules HHQ and PQS Play

- Multifunctional Roles in Quorum Sensing and Iron Entrapment. *Chemistry Biology*, 14(1), 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.11.014>
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020>
- Duan, K., Dammel, C., Stein, J., Rabin, H. and Surette, M.G. (2003), Modulation of *Pseudomonas aeruginosa* gene expression by host microflora through interspecies communication. *Molecular Microbiology*, 50: 1477-1491.
- Duman, M., Mulet, M., Saticiöglü, İ. B., Altun, S., Gomila, M., Lalucat, J., Garca-Valdes, E. (2020). *Pseudomonas sivasensis* sp. nov. isolated from farm fisheries in Turkey. *Systematic and Applied Microbiology*, 43(4), 126103. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2020.126103>
- Ercolini, D., Casaburi, A., Nasi, A., Ferrocino, I., di Monaco, R., Ferranti, P., Mauriello, G., Villani, F. (2010). Different molecular types of *Pseudomonas fragi* have the same overall behaviour as meat spoilers. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1–2), 120–131. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.012>
- Ercolini, Danilo, et al., 2007. Simultaneous Detection of *Pseudomonas fragi*, *P. lundensis*, and *P. putida* from Meat by Use of a Multiplex PCR Assay Targeting the *carA* Gene.” *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 73, no. 7, 2007, pp. 2354–59. *Crossref*, <https://doi.org/10.1128/aem.02603-06>.
- Ferrocino, I., Ercolini, D., Villani, F., Moorhead, S. M., Griffiths, M. W. (2009). *Pseudomonas fragi* Strains Isolated from Meat Do Not Produce N-Acyl Homoserine Lactones as Signal Molecules. *Journal of Food Protection*, 72(12), 2597–2601. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.12.2597>
- Fuqua, C., Parsek, M. R., Greenberg, E. P. (2001). Regulation of Gene Expression by Cell-to-Cell Communication: Acyl-Homoserine Lactone Quorum Sensing. *Annual Review of Genetics*, 35(1), 439–468. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.35.102401.090913>
- Gill, A., Greer, G., Nattress, F. (2014). MICROBIOLOGICAL ANALYSIS | Standard Methods. *Encyclopedia of Meat Sciences*, 306–316. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384731-7.00064-7>
- Girard, L., Lood, C., Rokni-Zadeh, H., Van Noort, V., Lavigne, R., De Mot, R. (2020). Reliable identification of environmental *Pseudomonas* isolates using the RPOD gene. *Microorganisms*, 8(8), 1166. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081166>
- Glessner, A., Smith, R. S., Iglewski, B. H., Robinson, J. B. (1999). Roles of *Pseudomonas aeruginosa las* and *rhl* Quorum-Sensing Systems in Control of Twitching Motility. *Journal of Bacteriology*, 181(5), 1623–1629. <https://doi.org/10.1128/jb.181.5.1623-1629.1999>
- Gülgör, G., Korukluoğlu, M. (2014). Mikroorganizmalar Arasında ođunluk Algılanması (Quorum Sensing) U. U. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2014, Cilt 28, Sayı 2, 83-92
- Hofmann, K., Huptas, C., Doll, E. V., Scherer, S., Wenning, M. (2019). *Pseudomonas saxonica* sp. nov., isolated from raw milk and skimmed milk concentrate. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(2), 935–943. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003851>
- Hossain, Z. (2014). Bacteria: *Pseudomonas*. *Encyclopedia of Food Safety*, 490–500. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-378612-8.00109-8>
- Iulietto, M. F., Sechi, P., Borgogni, E., Cenci-Goga, B. T. (2015). Meat Spoilage: A Critical Review of a Neglected Alteration Due to Ropy Slime Producing Bacteria. *Italian Journal of Animal Science*, 14(3), 4011. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4011>
- nat, G., Sırken, B., Bařkan, C., Erol, R., Yıldırım, T., iftci, A. (2021). Quorum sensing systems and related virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chicken meat and ground beef. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94906-x>

- Kolbeck, S., Abele, M., Hilgarth, M., Vogel, R. F. (2021). Comparative Proteomics Reveals the Anaerobic Lifestyle of Meat-Spoiling *Pseudomonas* Species. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.664061>
- Laue, B. E., Y. Jiang, S. R. Chhabra, S. Jacob, G. S. A. B. Stewart, A. Hardman, J. A. Downie, F. O’Gara, and P. Williams. 2000. The biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113 produces the *Rhizobium* small bacteriocin, N-(3-hydroxy-7-*cis*-tetradecenoyl)homoserine lactone, via HtdS, a putative novel N-acylhomoserine lactone synthase. *Microbiology* 146:2469–2480.
- Li H, Li X, Song C, Zhang Y, Wang Z, Liu Z, Wei H and Yu J (2017) Autoinducer-2 Facilitates *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Pathogenicity in Vitro and in Vivo. *Front. Microbiol.* 8:1944.
- Li, J., Zhao, X. (2020). Effects of quorum sensing on the biofilm formation and viable but non-culturable state. *Food Research International*, 137, 109742. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109742>
- Li, T., Wang, D., Ren, L., Mei, Y., Ding, T., Li, Q., Chen, H., Li, J. (2019). Involvement of Exogenous N-Acyl-Homoserine Lactones in Spoilage Potential of *Pseudomonas fluorescens* Isolated From Refrigerated Turbot. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02716>
- Liao, C. (2006). *Pseudomonas* and related genera. *Food Spoilage Microorganisms*, 507–540. <https://doi.org/10.1533/9781845691417.5.507>
- Lick, S., Kröckel, L., Wibberg, D., Winkler, A., Blom, J., Goesmann, A., Kalinowski, J. (2020). *Pseudomonas bubulae* sp. nov., isolated from beef. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1), 292–301. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003751>
- Liu, F., Guo, Y., Li, Y. (2006). Interactions of microorganisms during natural spoilage of pork at 5°C. *Journal of Food Engineering*, 72(1), 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.11.015>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03488.x>
- Liu, Y. J., Xie, J., Zhao, L. J., Qian, Y. F., Zhao, Y., Liu, X. (2015). Biofilm Formation Characteristics of *Pseudomonas lundensis* Isolated from Meat. *Journal of Food Science*, 80(12), M2904–M2910. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13142>
- López-Sánchez, A., Leal-Morales, A., Jiménez-Díaz, L., Platero, A. I., Bardallo-Pérez, J., Díaz-Romero, A., Acemel, R. D., Illán, J. M., Jiménez-López, J., Govantes, F. (2016). Biofilm formation-defective mutants in *Pseudomonas putida*. *FEMS Microbiology Letters*, 363(13), fnw127. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw127>
- Ma, Y., Shi, Q., He, Q., Gu, C. (2021). Metabolomic insights into the inhibition mechanism of methyl N-methylanthranilate: A novel quorum sensing inhibitor and antibiofilm agent against *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Food Microbiology*, 358, 109402. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109402>
- Mayansky, A. N., Chebotar, I. V., Rudneva, E. I., Chistyakova, V. P. (2012). *Pseudomonas aeruginosa*: Characteristics of the biofilm process. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 27(1), 1–6. <https://doi.org/10.3103/s0891416812010053>
- Mellor, G. E., Bentley, J. A., Dykes, G. A. (2011). Evidence for a role of biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens* in the spoilage of fresh aerobically stored chicken meat. *Food Microbiology*, 28(5), 1101–1104. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.003>
- Mohammed, M. H., Farghaly, R. M., Abdel-Aziz, N. M. (2023). The effect of some essential oils against biofilm producing *Pseudomonas aeruginosa* of meat sources. *SVU- International Journal of Veterinary Sciences*, 6(1), 100–115. <https://doi.org/10.21608/svu.2023.174609.1239>
- Mohan, C. C., Harini, K., Sudharsan, K., Krishnan, K. R., Sarojadevi, M. (2019). Quorum quenching effect and kinetics of active compound from *S. aromaticum* and *C. cassia* fused packaging

- films in shelf life of chicken meat. *LWT*, 105, 87–102. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.061>
- Monnet, V., Juillard, V., Gardan, R., 2016. Peptide conversations in gram positive bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.* 42, 339–351.
- Morimatsu, K., Eguchi, K., Hamanaka, D., Tanaka, F., Uchino, T. (2012). Effects of Temperature and Nutrient Conditions on Biofilm Formation of *Pseudomonas putida*. *Food Science and Technology Research*, 18(6), 879–883. <https://doi.org/10.3136/fstr.18.879>
- Nethra, P. V., Sunooj, K. V., Aaliya, B., Navaf, M., Akhila, P. P., Sudheesh, C., Mir, S. A., Shijin, A., George, J. (2023). Critical factors affecting the shelf life of packaged fresh red meat- A review. *Measurement: Food*, 10, 100086. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.meaf.2023.100086>
- Osman, K., Orabi, A., Elbehiry, A., Hanafy, M. H., Ali, A. M. (2019). *Pseudomonas* species isolated from camel meat: quorum sensing-dependent virulence, biofilm formation and antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 14(7), 609–622. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0293>
- Oussalah, Mounia, et al. “Antimicrobial Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth of a *Pseudomonas Putida* Strain Isolated from Meat.” *Meat Science*, vol. 73, no. 2, 2006, pp. 236–44. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.11.019>.
- Pang, X., Yuk, H. G. (2019). Effects of the colonization sequence of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on survival of biofilm cells under food-related stresses and transfer to salmon. *Food Microbiology*, 82, 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.02.002>
- Papadopoulou, O. S., Iliopoulos, V., Mallouchos, A., Panagou, E. Z., Chorianopoulos, N., Tassou, C. C., Nychas, G. J. E. (2020). Spoilage Potential of *Pseudomonas* (*P. fragi*, *P. putida*) and LAB (*Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus sakei*) Strains and Their Volatilome Profile during Storage of Sterile Pork Meat Using GC/MS and Data Analytics. *Foods*, 9(5), 633. <https://doi.org/10.3390/foods9050633>
- Pellissery, A. J., Vinayamohan, P. G., Amalaradjou, M. A. R., Venkitanarayanan, K. (2020). Spoilage bacteria and meat quality. *Meat Quality Analysis*, 307–334. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819233-7.00017-3>
- Pena, R. T., Blasco, L., Ambroa, A., González-Pedrajo, B., Fernández-García, L., López, M., Bleriot, I., Bou, G., García-Contreras, R., Wood, T. K., Tomás, M. (2019). Relationship Between Quorum Sensing and Secretion Systems. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01100>
- Pereira, Catarina S., et al. “AI-2-Mediated Signalling in Bacteria.” *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 37, no. 2, 2013, pp. 156–81. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00345.x>.
- Piette, J. P., Idziak, E. S. (1991). Role of flagella in adhesion of *Pseudomonas fluorescens* to tendon slices. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(6), 1635–1639. <https://doi.org/10.1128/aem.57.6.1635-1639.1991>
- Poursina, S., Ahmadi, M., Fazeli, F., Ariaii, P. (2022). Assessment of virulence factors and antimicrobial resistance among the *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from animal meat and carcass samples. *Veterinary Medicine and Science*, 9(1), 315–325. <https://doi.org/10.1002/vms3.1007>
- Quintieri, L., Caputo, L., Brasca, M., Fanelli, F. (2021). Recent Advances in the Mechanisms and Regulation of QS in Dairy Spoilage by *Pseudomonas* spp. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(12), 3088.
- Rather, M. A., Saha, D., Bhuyan, S., Jha, A. N., Mandal, M. (2022). Quorum Quenching: A Drug Discovery Approach Against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological Research*, 264, 127173. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127173>
- Raza, W., Ling, N., Liu, D., Wei, Z., Huang, Q., Shen, Q. (2016). Volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* WR-1 restrict the growth and virulence traits of *Ralstonia solanacearum*. *Microbiological Research*, 192, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.014>

- Sala, C., Morar, A., Colibar, O., Morvay, A. (2012). Antibiotic resistance of gram negative bacteria isolated from meat surface biofilm. *Rom. Biotechnol. Lett.* 17 (4), 7483-7492
- Salman, M. K., Abuqwider, J., Mauriello, G. (2023). Anti-Quorum sensing activity of probiotics: The mechanism and role in food and gut health. *Microorganisms*, 11(3), 793. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030793>
- Schuster, M., Peter Greenberg, E. (2006). A network of networks: Quorum-sensing gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(2-3), 73-81.
- Shao, L., Chen, S., Wang, H., Zhang, J., Xu, X., Wang, H. (2021). Advances in understanding the predominance, phenotypes, and mechanisms of bacteria related to meat spoilage. *Trends in Food Science and Technology*, 118, 822-832. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.007>
- Sharma, G., Rao, S., Bansal, A., Dang, S., Gupta, S., Gabrani, R. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: Potential therapeutic targets. *Biologicals*, 42(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2013.11.001>
- Shirazi, J., Ain, Q., Khan, S., Jalil, A., Siddiqui, M. F., Ahmad, T., Badshah, M., Adnan, F. (2022). Targeting Acyl Homoserine Lactones (AHLs) by the quorum quenching bacterial strains to control biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1673-1682. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.064>
- Smith, R. S., Iglewski, B. H. (2003). *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. *Journal of Clinical Investigation*, 112(10), 1460-1465. <https://doi.org/10.1172/jci200320364>
- Spyrelli, E. D., Özcan, O., Mohareb, F., Panagou, E. Z., Nychas, G. (2021). Spoilage assessment of chicken breast fillets by means of fourier transform infrared spectroscopy and multispectral image analysis. *Current Research in Food Science*, 4, 121-131. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2021.02.007>
- Stanborough, T., Fegan, N., Powell, S. M., Singh, T., Tamplin, M., Chandry, P. S. (2018). Genomic and metabolic characterization of spoilage-associated *Pseudomonas* species. *International Journal of Food Microbiology*, 268, 61-72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.005>
- Stellato, G., Utter, D. R., Voorhis, A., de Angelis, M., Eren, A. M., Ercolini, D. (2017). A Few *Pseudomonas* Oligotypes Dominate in the Meat and Dairy Processing Environment. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00264>
- Tchagang, C. F., Xu, R., Overy, D., Blackwell, B., Chabot, D., Hubbard, K., Doumbou, C. L., Bromfield, E. S. P., Tambong, J. T. (2018). Diversity of bacteria associated with corn roots inoculated with Canadian woodland soils, and description of *Pseudomonas aylmerense* sp. nov. *Heliyon*, 4(8), 1-25.
- Venturi, V. (2006). Regulation of quorum sensing in *Pseudomonas*. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(2), 274-291. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2005.00012.x>
- Wagner, E. M., Fischel, K., Rammer, N., Beer, C., Palmethofer, A. L., Conrady, B., Roch, F. F., Hanson, B. T., Wagner, M., Rychli, K. (2021). Bacteria of eleven different species isolated from biofilms in a meat processing environment have diverse biofilm forming abilities. *International Journal of Food Microbiology*, 349, 109232. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109232>
- Wang, G. Y., Wang, H. H., Han, Y. W., Xing, T., Ye, K. P., Xu, X. L., Zhou, G. H. (2017). Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from chilled chicken in vitro and in situ. *Food Microbiology*, 63, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.015>
- Wang, Xin-Yun, and Jing Xie. "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*, vol.



- 11, 2021. *Crossref*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00940>.
- Wang, Xin-Yun, ve Jing Xie. "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*, vol. 11, 2020. *Crossref*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00940>.
- Wang, Y., Gao, L., Rao, X., Wang, J., Yu, H., Jiang, J., Zhou, W., Wang, J., Xiao, Y., Li, M., Zhang, Y., Zhang, K., Shen, L., Hua, Z. (2018). Characterization of lasR-deficient clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30813-y>
- Wen, X., Zhang, D., Li, X., Ding, T., Liang, C., Zheng, X., Yang, W., Hou, C. (2022). Dynamic changes of bacteria and screening of potential spoilage markers of lamb in aerobic and vacuum packaging. *Food Microbiology*, 104, 103996. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.103996>
- Wickramasinghe, N. N., Ravensdale, J. T., Coorey, R., Dykes, G. A., Chandry, P. S. (2021). Transcriptional profiling of biofilms formed on chilled beef by psychrotrophic meat spoilage bacterium, *Pseudomonas fragi* 1793. *Biofilm*, 3, 100045. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2021.100045>
- Wickramasinghe, N. N., Ravensdale, J. T., Coorey, R., Dykes, G. A., Scott Chandry, P. (2019a). In situ characterisation of biofilms formed by psychrotrophic meat spoilage pseudomonads. *Biofouling*, 35(8), 840-855.
- Wickramasinghe, N. N., Ravensdale, J., Coorey, R., Chandry, S. P., Dykes, G. A. (2019b). The Predominance of Psychrotrophic Pseudomonads on Aerobically Stored Chilled Red Meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1622–1635. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12483>
- Yi, L., Su, G., Hu, G., Peng, Q. (2016). Diversity study of microbial community in bacon using metagenomic analysis. *Journal of Food Safety*, 37(3), e12334. <https://doi.org/10.1111/jfs.12334>
- Yin, L., Zhang, Y., Azi, F., Zhou, J., Liu, X., Dai, Y., Wang, Z., Dong, M., Xia, X. (2022). Inhibition of biofilm formation and quorum sensing by soy isoflavones in *Pseudomonas aeruginosa*. *Food Control*, 133, 108629. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108629>
- Zhang, L., Li, S., Liu, X., Wang, Z., Jiang, M., Wang, R., ... Shen, X. (2020). Sensing of autoinducer-2 by functionally distinct receptors in prokaryotes. *Nature communications*, 11(1), 1-13.
- Zhang, W., Mi, X., Zhang, C., Yu, C., Wang, S., Ji, J., Yuan, Y., Wang, L., Liu, W., Jiang, Y. (2023a). Meat-derived *Escherichia coli* and *Pseudomonas fragi* manage to co-exist in dual-species biofilms by adjusting gene-regulated competitive strength. *Food Microbiology*, 109, 104122. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104122>
- Zhang, Y., Wu, Q., Forsythe, S. J., Liu, C., Chen, N., Li, Y., Zhang, J., Wang, J., Ding, Y. (2023b). The cascade regulation of small RNA and quorum sensing system: Focusing on biofilm formation of foodborne pathogens in food industry. *Food Bioscience*, 52, 102472. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102472>
- Zhao A, Zhu J, Ye X, Ge Y, Li J. Inhibition of biofilm development and spoilage potential of *Shewanella baltica* by quorum sensing signal in cell-free supernatant from *Pseudomonas fluorescens*. *Int J Food Microbiol*. 2016;230:73-80.