



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

Quorum sensing och quorum quenching

Bakteriers förmåga att kommunicera med varandra, och vägar
att störa denna mekanism för att hämma infektion.

Quorum sensing and quorum quenching:

The ability of bacteria to communicate with each other, and ways
to disrupt this mechanism to reduce infection.

Moa Therése Viklund

*Uppsala
2019*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen, 15 hp

Titel: Quorum sensing och quorum quenching: Bakteriers förmåga att kommunicera med varandra, och vägar att störa denna mekanism för att hämma infektion.

Titel eng: Quorum sensing and quorum quenching: The ability of bacteria to communicate with each other, and ways to disrupt this mechanism to reduce infection.

Moa Therése Viklund

Handledare: Ingrid Hansson, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF); Enheten för bakteriologi och livsmedelssäkerhet

Examinator: Maria Löfgren, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0862

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig institution: Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Quorum sensing, QS, quorum quenching, QQ, QSI, bakteriekommunikation, interspecies kommunikation, AI2, intraspecies kommunikation, AI1, autoinducerare, homoserin laktone, AHL, AIP, antimikrobiell aktivitet, resistensutveckling.

Key words: Quorum sensing, QS, quorum quenching, QQ, QSI, bacterial communication, intraspecies communication, AI1, interspecies communication, AI2, autoinducers, homoserine lactone, AHL; AIP, antimicrobial activity, antibiotic resistance.

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

| | |
|--|----|
| Förkortningar..... | 1 |
| Sammanfattning | 2 |
| Summary | 3 |
| Inledning | 4 |
| Material och metoder | 4 |
| Bakgrund..... | 5 |
| Quorum sensing sker med autoinducerare | 5 |
| Intraspecieskommunikation sker med autoinducerare typ 1 (AI1)..... | 6 |
| Gramnegativa bakterier..... | 6 |
| Grampositiva bakterier..... | 8 |
| Interspecieskommunikation sker med autoinducerare typ 2 (AI2)..... | 9 |
| Quorum quenching och antimikrobiell aktivitet | 10 |
| Tänkbara quorum quenching metoder | 11 |
| Autoinducerar receptorantagonister..... | 11 |
| Hämma syntesen av autoinducerare..... | 11 |
| Inaktivering av autoinducerare..... | 11 |
| Nedbrytning eller inhibering av autoinducerare..... | 12 |
| Hämma sekretionen eller transport av autoinducerare..... | 12 |
| Resistensutvecklingsteorier kopplat till quorum quenching | 13 |
| Diskussion | 13 |
| Slutsats | 15 |
| Litteraturförteckning | 16 |

FÖRKORTNINGAR

AHL - Acyl homoserin lakton (gramnegativa autoinducerare)

AI1 - Autoinducerare typ 1 för intraspecieskommunikation

AI2 - Autoinducerare typ 2 för interspecieskommunikation

AIP - Autoinducerande peptider (grampositiva autoinducerare)

QS - Quorum sensing

QSI - Quorum sensing hämmare

QQ - Quorum quenching

SAMMANFATTNING

Den här litteraturstudien syftar till att översiktligt förklara hur bakterier kommunicerar med varandra och att sammanfatta hur mekanismen kan hämmas, med syfte att minska bakteriers virulens och förmåga att manifesteras infektion.

Quorum sensing är bakteriers förmåga att kommunicera med varandra och ger dem möjligheten att uppvisa en form av multicellularitet. Till följd av kommunikationen kan de med en hög grad av samordning och på ett energieffektivt sätt uttrycka virulensfaktorer som biofilm, motilitet, toxiner eller bioluminescens som möjliggör infektion. Genom att studera symbiosförhållandet mellan bläckfisken *Euprymna scolope* och bakterien *Vibrio fisheri*, ökade förståelsen kring hur celldensiteten hos bakterierna ledde till det aktiverade gensvaret, vilket visade sig i en självlysande förmåga hos den typen av bakterier. Gensvaret i sig är beroende av kommunikationen mellan bakterierna, och sker med kemiska signalsubstanser kallade autoinducerare.

Autoinducerarna skiljer sig mellan gramnegativa och grampositiva bakterier baserat på molekylens utseende, som enkelt beskrivet resulterar i bakteriernas språk. Gramnegativa bakterier använder sig av homoserin-laktoner medan grampositiva bakterier använder sig av oligopeptider för kommunikation inom bakteriearten, kallat intraspecieskommunikation. Det pågår även kommunikation mellan bakteriearter, vilket kallas interspecieskommunikation. Interspecieskommunikationen är essentiellt för bland annat biofilmsformation, och sker med autoinducerande furanosyl-borat-estrar.

På grund av årtionden med riklig antibiotikaanvändning globalt har multiresistenta bakterier selekterats fram. Det medför att forskare letar efter alternativa vägar för att hämma dessa infektioner. Läkemedel riktade mot quorum sensing kan möjligen bli ett alternativ till, eller användas i kombination med konventionell antibiotika för terapeutiska behov i framtiden. Det kan till exempel ske genom autoinducerareceptor-antagonister, hämning av autoinducerarsyntes, inaktivering av autoinducerare, eller genom att hämma sekretion av autoinducerare. Än råder det viss oenighet hos forskare huruvida resistens kan komma att utvecklas mot quorum sensing-hämmare. Vissa forskare menar att det inte sker resistens mot dessa, eftersom bakteriernas DNA inte påverkas och då heller inte bakteriernas tillväxt. Andra forskare anser att det selektiva trycket för resistens kommer minska om man använder quorum sensing synergiskt med konventionell antibiotika, eftersom dessa kombinationspreparat innebär att lägre doser kan ges. Den tredje gruppen forskare menar att resistensutvecklingen redan pågår.

Hittills har det enbart gjorts ett fåtal kliniska studier avseende quorum sensing och resultaten har varierat. Det råder däremot inga tvivel om att quorum sensing-hämmare kan bli ett alternativ för att behandla bakteriell sjukdom hos djur och växter i framtiden. Men det krävs vidare forskning och en djupare förståelse för hur quorum sensing kan användas som måltavla för läkemedel på ett säkert sätt för patienten och miljön innan det kommer tas i bruk.

SUMMARY

This literature study aims to summarize how communication takes place in Gram-negative and Gram-positive bacteria. It will describe some ways we can utilize quorum sensing in the future to prevent bacterial infections by inhibiting their way of communicating.

Quorum sensing is the ability of bacteria to communicate with each other and thereby exhibit a form of multicellularity. Through this process they strategically express virulence factors such as biofilm, motility, toxins or bioluminescence, which enable them to infect their host in the most energy efficient way.

The general understanding is that the cell density of the bacteria leads to the activated genes resulting in the luminescent ability. This understanding was developed by studying the symbiosis relationship between the squid *Euprymna scoloes* and the bacterium *Vibrio fisheri*. The response itself is dependent on communication between the bacteria. It is done by chemical transmitters called autoinducers, which differ between gram-negative and gram-positive bacteria based on the molecular structure of the autoinducer. The autoinducers gives the bacteria its species specificity when it comes to communication. Gram-negative bacteria use homoserine lactones, while gram-positive bacteria use peptides as autoinducers to start the gene activation. In addition, there is also communication between species, which is essential in biofilm formation. This communication takes place with the help of other types of autoinducers called furanosyl-borate esters.

Multi-resistant bacteria, due to decades of overuse of antibiotics used globally, has led to the importance of finding new ways in treating bacterial diseases. Quorum sensing inhibitors can act as an alternative to, or in combination with, conventional antibiotics to cure bacterial disease. For example, quorum sensing inhibition can be done by any of the following: using autoinducer receptor antagonists, inhibiting the autoinducer synthesis, inactivating or breaking down autoinducers, or by inhibiting autoinducer secretion which can be done by biological or synthetic methods.

There are some disagreements among researchers as to whether the development of resistance to quorum sensing inhibitors may occur. Some researchers believe that quorum sensing inhibitors will reduce the selective pressure for developing resistance since this mechanism does not affect the DNA and, thereby, not the growth of the actual bacteria. While other researchers believe that resistance to quorum sensing inhibitors is already an ongoing issue. Only a few clinical studies have been completed so far with varying results. However, there is no doubt that quorum sensing inhibitors can become an alternative way of treating bacterial disease in animals and plants in the future. But there is still a need for further research and a deeper understanding of how to use quorum sensing inhibitors safely with patients.

INLEDNING

Quorum sensing avser bakteriers förmåga att kommunicera med varandra och därmed uppvisa en form av multicellularitet (de Kievitand Iglewski, 2000). Det är ett komplext beteende som innebär att bakterierna taktiskt koordinerar sig och väntar tills de är tillräckligt många, innan de synkroniserat uttrycker olika typer av virulens där specifika gener aktiveras för att så effektivt som möjligt kunna infektera sin värd (Schauder et al. 2001; Williams 2007; Schluter et al. 2016) Bakteriestammens genupsättning styr effekten av aktiveringen av generna vilket till exempel kan vara virulens, biofilm, motilitet eller överföring av antibiotikaresistensgener (Williams, 2007). Men hur är kommunikationen möjlig? Hur skiljer sig quorum sensing mellan bakteriestammar och hur kan detta påverka oss?

Denna litteraturstudie avser att på ett övergripande sätt beskriva hur quorum sensing fungerar hos gramnegativa och grampositiva bakterier. Slutligen förs ett resonemang kring den tillgängliga forskningen gällande quorum sensing och framtiden, eftersom vetenskapligt arbete fortgår att genom hämmande av bakteriekommunikationen, kunna skapa nya typer av antimikrobiella substanser och antibiotika. Allt för att reducera virulens hos bakterier och därmed hämma bakteriell infektion.

MATERIAL OCH METODER

Databaser som använts för denna litteraturstudie är;

PubMed: "quorum sensing" AND "bacterial communication" AND "virulence factors" eller "quorum sensing" OR "bacterial communication" OR "antibiotic resistance" OR bacteria "quorum sensing" and Autoinducers". Evolution AND "quorum sensing". Eller ensamt sökt på "novel antimicrobials".

Web of science, science direct och scopus. Sökbegreppen har varit "quorum sensing" AND "bacterial communication", även ("quorum sensing" or qs) AND (antibiotic* or penicillin* or "anti-bacterial agent*" or cephalosporin* or erythomycin*) è 1849 träffar. Jag sökte dessutom på motsatsen till quorum sensing, vilket kallas för quorum quenching; ("quorum quenching") and (antibiotic* or penicillin* or "anti-bacterial agent" or cephalosporin* or erythomycin*) è 149 träffar.

Sökningar har även gjorts på specifika bakterier, sökorden har då varit tex "pseudomonas aeruginosa" AND "quorum sensing" OR "staphylococcus aureus" AND "quorum sensing". Sökte dessutom på SLU bibliotekets söksida "quorum sensing" and "quorum quenching" and future or "bacterial communication" è 1492 träffar.

BAKGRUND

Forskningsarbetet för att förstå bakteriernas samspel sträcker sig tillbaka till 1960–70 talet, där studier pågick för att förstå hur bakterier koordinerar sitt genuttryck för bioluminiscens genom luciferas, vilket är ett enzym som skapar en självlysande förmåga hos ett antal djur och bakterier (Nealson et al., 1970). Slutsatsen blev att celldensiteten var en faktor som slog på och av generna. Det var däremot inte förrän studier gjordes på symbiosförhållandet mellan den hawaiianska bläckfisken *Euprymna scolopes* och bakterien *Vibrio fisheri* (Lupp et al., 2003), som förståelsen uppstod att bakterier kommunicerar med varandra med hjälp av densitetsberoende signalsubstanser kallade autoinducerare (McFall-Ngai et al., 2012).

Euprymna scolopes lever på grunt vatten, sover nedgrävd i sanden på dagarna och jagar på nätterna. Bläckfisken har en unik egenskap som grundar sig i att den har ett ljusorgan där den huserar bakterien *V. fisheri*, en bakterie som har förmåga att avge luminiscens. Symbiosen medför att bakterien lever skyddad och får näring inne i ljusorganet och bläckfisken använder sig av ljuset som *V. fisheri* avger för att kamouflera sig. Vid jakt på nätterna är det essentiellt för *Euprymna scolopes* att vara osynlig, och för att inte månljuset ska skapa en skugga bakom bläckfisken använder den sig av skenet från bakterierna och matchar bioluminiscens-utflödet med inflödet av månljus med hjälp av receptorer den har på sin rygg. Vid gryning skjuter bläckfisken ut det mesta av bakterierna och återfår då sin vanliga färg eftersom bakterierna slutar lysa när celldensiteten minskar. Bakterierna börjar sedan replikeras på nytt, och vid kvällen har det blivit nog många bakterier för att celldensiteten ska vara så hög att de börjar lysa igen (B. W. Jones et al. 2003; Wier et al. 2010).

Genom omfattande forskning kring celldensitet myntades begreppet quorum sensing (QS) av Dr Steven Winans på 90-talet (Fuqua et al. 1994; Turovskiy et al. 2007). Ordet quorum grundar sig i latinets ”vilka” och syftar till att ”nog många måste närvara på ett möte för att ett beslut ska kunna fattas” (Nationalencyklopedin, 2019)

Mekanismen med celldensitet och signalsubstanser är något de flesta bakterier använder, för att på ett energieffektivt sätt uttrycka olika gensvar för att samspelt lyckas infektera sin värd. Kommunikationsförmågan möjliggör det för bakterierna att agera som multicellulära organismer (Schauder et al. 2001).

QUORUM SENSING SKER MED AUTOINDUCERARE

Kommunikationen, quorum sensing (QS), sker med olika typer av kemiska substanser kallade autoinducerare (AI), vilka bakterierna producerar själva. Dessa utsöndras relativt konstant hos bakterierna och de diffunderar ut i området bakterierna är belägna på. Det är taktiskt nog inte förrän celldensiteten är tillräckligt hög, som autoinducerarna fäster på receptorer i cytoplasman eller på cellmembranet på bakterien varpå en signalkaskad startar. Detta för att synkroniserat lyckas infektera en värd (Rutherford and Bassler, 2012). Samordningen går ut på att inte slösa på de egna resurserna och att spara på energin som används för att bilda slutfaktorerna (Schluter et al., 2016). Det aktiverade genuttrycket leder bland annat till motilitet hos *Yersinia pseudotuberculosis*, svärmning hos *Serratia liquefaciens*,

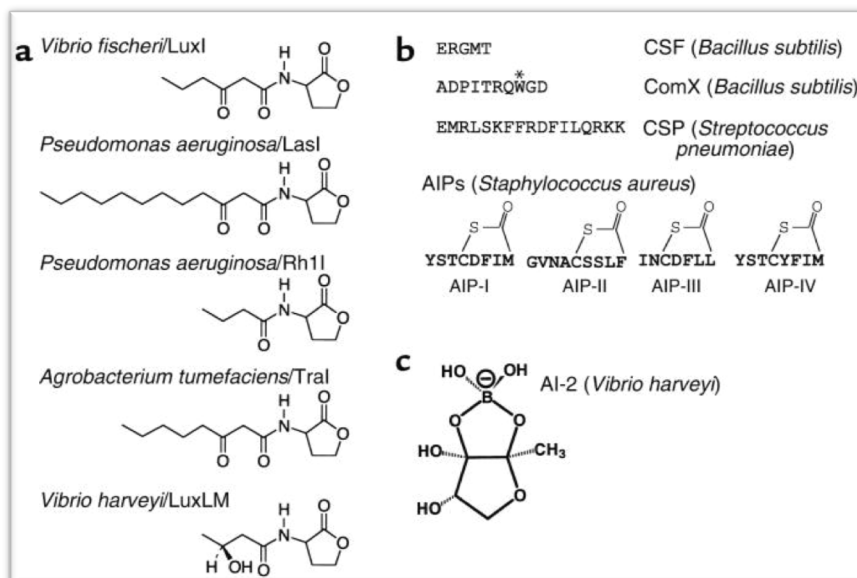
biofilmsformation hos *Pseudomonas aeruginosa*, plasmidkonjugering hos *Agrobacterium tumefaciens*, eller exoproteoaser hos *Burkholderia pseudomallei* (Williams, 2007). Quorum sensing sker både inom arten, kallat intraspecies-kommunikation, och mellan bakteriearter vilket kallas för interspecies-kommunikation.

Intraspecieskommunikation sker med autoinducerare typ 1 (AI1)

Intraspecies-kommunikationen skiljer sig mellan gramnegativa- och grampositiva bakterier, men slutprodukten blir ökad förmåga att överleva och kolonisera sin värd hos båda grupperna.

Gramnegativa bakterier

De flesta gramnegativa bakterierna använder sig av regulatoriska enzymer för att bilda N-acyl-homoserin-lakton-molekyler (AHL) som autoinducerare. Den funktionella enheten av denna molekyl är homoserinringen vilken är kopplad till en kolkedja. Det som ger bakterierna kommunikationsspecificiteten är att kolkedjorna har varierande längd och olika grad av mättnad. Dessutom kan de ha olika atom eller atomgrupper på det tredje kolet (Parsek and Greenberg 2000; de Kievit and Iglewski 2000; Turovskiy et al. 2007; Rutherford and Bassler 2012). Den generella strukturen för AHL är liknande hos olika gramnegativa bakterier och de räknas som homologer (Figur 1), där man trivialt kallar dem för LuxI/LuxR-liknande system eftersom det var det första systemet forskare studerade (Koch et al. 2005). AHL har annars olika namn hos gramnegativa bakterier (Turovskiy et al. 2007). De kallas exempelvis för LasI hos *Pseudomonas aeruginosa* (Williams 2007), och TraI hos *Agrobacterium tumefaciens* (White and Finan 2009) se tabell 1. Dessa autoinducerare binder till cytoplasmatiska receptorer som kallas LasR hos *P. aeruginosa* och TraR för *A. tumefaciens* vilka är transkriptionsregulatorer som vidare binder in till olika operon på kromosomerna som kodar för de aktuella QS-signalerna som ska uttryckas (de Kievit and Iglewski 2000).



Figur 1. Uppbyggnad av olika autoinducerare. **a.** N-acyl-homoserin-lakton-molekyler (AHL) hos Gram-negativa bakterier **b.** Autoinducerande peptider (AIP) hos Gram-positiva bakterier **c.** AI-2 hos *Vibrio harveyi*, Figuren är en kopia från Federle och Bassler, 2003. Godkänd att använda enligt Michael J Federle 10 april 2019.

De längsta autoinducerarna kräver effluxpumpar och aktiv transport för att diffundera ut i omgivningen, annars diffunderar de passivt över membranet hos de flesta gramnegativa bakterierna (Pearson et al. 1999). Övriga signalmolekyler förutom AHL som är kända för gramnegativa bakterier är molekyler som bildas med S-adenosylmethionine (SAM) som substrat (Wei et al. 2011).

Artspecificitet med avseende på quorum sensing hos utvalda gramnegativa bakterier

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) är en opportunistisk miljöbakterie som förekommer hos de flesta djuren inklusive reptiler och fåglar. Det är en av de mest studerade bakterierna vad gäller quorum sensing då den ger allvarlig pneumoni hos människor med cystisk fibros eller annan immunnedsattthet (Folkesson et al., 2012). *Pseudomonas aeruginosa* använder sig av tre typer av LuxI/LuxR-system. Den första är med autoinduceraren LasI, där genregleringen leder till produktion av siderophorer, exotoxin, lipaser och biofilm (Parsek and Greenberg, 2000). Det andra systemet är med autoinduceraren RhlI som leder till produktion av toxiner och sekundära metaboliter. LasI och RhlI verkar ha en koppling, även om de inte direkt kan aktivera varandra. Las verkar dock vara dominant över RhlI (de Kievit and Iglewski 2000). Det tredje systemet ger en utsöndring av kontrollenzym som elastas och proteas och kallas för pseudomonas quinolone signal (PQS). PQS tycks kunna bli aktiverad av både Las och Rhl, vilket kan tyda på att denna autoinducerare även skulle kunna fungera för interspecieskommunikation (Pesci et al. 1999).

Tabell 1. Översikt av intraspecieskommunikation hos utvalda gramnegativa bakterier

| Bakterie art/underart | Reservoar /värdjur | Auto-inducerare/ transkriptions-regulator LuxI/luxR-system | Fenotyp/ Effekt av Quorum | Sjukdom hos värd | Referens |
|---|---|--|---|---|--|
| <i>Agrobacterium tumefaciens</i> | Miljö/ växter | TraI/TraR | Ti plasmid-konjugering | Växttumör kallad gall | (White and Finan 2009; Koch et al. 2005) |
| <i>Escherichia coli</i> | /De flesta djur, människa och fåglar | verkar sakna LuxI homolog/SdiA (SdiS) | Celldelning, adhesion, lesionsformation | Sjukdomen beror av patotypen. Enterit, septikemi. Ödemsjuka hos gris och äggledar-inflammation hos fjäderfä, HUS hos människa | (Turovskiy et al. 2007) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Miljö/ nöt, hund, häst, fåglar, reptiler, människa | LasI/LasR RhlI/RhlR Iqs PQS/PqsR | Biofilm, exotoxiner, exoenzymer, motilitet, sekundära metaboliter, elastas, 4-quinolone signalering, virulens | Pneumoni, mastit, otit | (Williams 2007; Guendouze et al. 2017) |
| <i>Salmonella enterica subsp enterica</i> | /Gris, nöt, fjäderfä beroende på serovar | SdiS motsvarande LuxR men har ingen LuxI homolog. | Motilitet | Gastroenterit | (Turovskiy et al. 2007) |
| <i>Vibrio fischeri</i> | Euprymna scolope bläckfisk | LuxI/LuxR OrphanLuxI | Bioluminescence | Symbios-förhållande ej sjukdom | (Koch et al. 2005) |
| <i>Vibrio harveyi</i> | Frilevande i havet eller i tarmfloran hos marina djur | LuxLM/LuxN ej homologer till LuxI/R systemet | Bioluminescence | Luminos vibros hos kräftor | (Federle and Bassler 2003) |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Människa, gnagare, gris/ Gris | YenI/YenR | Motilitet | Enterit hos gris, abort på tackor och matförgiftning på människa | (Throup et al. 1995) |

Grampositiva bakterier

Grampositiva bakterier använder sig av autoinducerande peptider (AIP) som autoinducerare. Dessa kommer inducera en form av genreglering som sker via ett två-komponents-signaltransduktionssystem där AIP binder till membranbundna histidin-kinasreceptorer, vilket skapar en autofosforylering genom aspartat som leder till ett aktiverat genuttryck (Turovskiy et al. 2007). Gensvaret som bakterien kodar för finns listade i operon och utöver virulensfaktorer bildas även fler autoinducerare, vilka är precursorprotein kallade pro-AIP. Pro-AIP måste modifieras innan de blir aktiva och kan lämna bakterien, vilket de sedan gör genom transportprotein kallade ATP-bindande kassetter, eftersom membranet inte släpper igenom peptider (Turovskiy et al. 2007). Artspecificiteten kommer av peptidernas utseenden. De kan vara oligopeptider, polypeptider och/eller ha olika funktionella ytor (Rutherford and Bassler 2012).

Artspecificitet med avseende på quorum sensing hos utvalda grampositiva bakterier

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) är en bakterie som förekommer hos många djur och kan orsaka bland annat dermatit, abscesser och mastit. *S.aureus* överlever dessutom i de flesta miljöer, vilket resulterat i både meticillin- och vancomycin-resistensutveckling hos stammen (McGuinness et al. 2017). De uttrycker virulensfaktorer eller bildar biofilm genom att aktivera operon benämnda "accessory gene regulators" (agr). Agr aktiverar promotornerna P2 och P3 och autoinducerarna RNAII och RNAIII som ger hemolysin, toxin, protein A och fibronectin (Rutherford and Bassler 2012). Signalvägarna för aktivering av agr-systemet är komplext men sluteffekten blir aktivering av exotoxiner, exoenzymer och en samtidig inhibering av biofilmsformation. En senare inaktivering av agr leder således till biofilmsformation och inhibering av virulensfaktorer (Rutherford and Bassler 2012).

S. aureus har ett flertal underarter vilka kan delas upp i fyra grupper beroende på den typ av AIP de har. De olika underarterna kan hämma varandras QS i en given miljö eftersom de strävar efter att fästa i samma receptor (Kaufmann et al. 2008). *Staphylococcus aureus* använder sig av en uppsjö av regulatoriska enzym för att samordna P2 och P3 och ett par av dem styr även hur *S. aureus* kan ta emot och svara på signaler från miljön, allt för att effektivisera hur väl bakterien förbrukar sina energireserver (Rutherford and Bassler 2012).

Tabell 2. Översikt av intraspecieskommunikation hos utvalda grampositiva bakterier

| Bakterie art/underart | Reservoir / värddjur | Autoinducerare/ transkriptions-regulator | Fenotyp/ Effekt av Quorum | Sjukdom hos värd | Referens |
|--|--|---|--|--|--|
| <i>Bacillus subtilis</i> | Miljö/ | PlcR/PapR ComX CSF | Sporulering | Kan kontaminera mat men är apatogen | (Turovskiy et al. 2007; Rutherford and Bassler 2012) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | /flertal djur | cCF10, cAD1,cPD1, COB1 och cAM373/FsR GBAP och CylLs/FsrC och CylRI | Överföring av resistensgener genom plasmider | Opportunistiska infektioner | (Ali et al. 2017) |
| <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> | /häst, nöt, får, fjäderfä, hund, katt, människa, gnagare | AIP/agrC genom RNAPII och RNAPIII som styrs av P2 och P3 | Toxiner, biofilm, adhesion Hemolysiner: α -toxin, β -toxin, γ -toxin, δ -toxin Protein A och koagulas | Opportunist: Ulcerativ dermatit, mastit, gastroenterit | (Rutherford and Bassler 2012) |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | /primater, gnagare | TprA/PhrA även Tpr/Phr | Invasiner (pneumolysin) | Lunginflammation, septikemi, meningit | (Monnet and Gardan 2015) |

Interspecieskommunikation sker med autoinducerare typ 2 (AI2)

Interspecieskommunikation är den generella kommunikationen bakterier använder för att vidarebefordra information mellan olika bakteriestammar. Ett typiskt exempel på interspecieskommunikation är i biofilmer som plack på tänderna, där hundratals bakteriearter lever i en form av homeostas med varandra (Kolenbrander et al. 2002; Rickard et al. 2006). Forskare förstod att kommunikationen skiljde sig från AI1 genom att studera bakterien *Vibrio harveyis* förmåga att avge bioluminiscens vid tillsats av vätskor innehållande olika bakteriekulturer (Cline and Hastings 1972). På 90-talet påvisades en helt annan form av autoinducerare länkat till gensvaren, som till skillnad från AI1 inte var peptider eller laktoner utan en furanosyl-borat-ester kallad luxS vilket är ett syntas hos *V. harvei* (Federle and Bassler 2003). Det blev kallat för interspecieskommunikation (Bassler et al. 1997) och klassas som det universella språket mellan bakteriearter (Schauder et al. 2001).

För att starta signalvägen för interspecieskommunikation kommer autoinduceraren LuxS binda till regulatören LuxP som startar signalkaskaden för att genreglering ska ske. Alla undersökta bakterier med luxS-homologer verkar kännas igen av AI2 regulatorer på andra bakterier, vilket styrker att det här systemet finns hos både grampositiva och gramnegativa bakterier (Schauder et al. 2001). Schauders forskningsresultat tyder på att LuxS-homologerna återfinns på olika platser på kromosomerna hos olika bakterier, men hos *Borrelia burgdorferi* verkar de samverka i en signalväg med två andra gener kallade metK och pfs för att bilda autoinducerare, vilket kan vara en förklaring till varför de kan vara svåra att finna (Schauder et al. 2001). Det saknas fortfarande kunskap om exakta signalvägar för AI2 hos flera bakterier och man vet heller inte om bakterierna kan känna av vilken bakterieart den stöter på eller om de bara känner av att någon annan bakterie är närvarande (Federle and Bassler 2003).

Interspecieskommunikationen i biofilmer krävs för att bakterierna ska kunna upprätthålla en komplex arkitektur, där de lever samordnat och motverkar nedbrytning orsakad av antimikrobiella medel och läkemedel. Bakterier som inte själva producerar AI2 kan ändå svara på signalerna, vilket utnyttjas för att få medverka i biofilmer (Rickard et al. 2006).

Tabell 3. Översikt av ett fåtal interspecieskommunikationer

| Bakterie art/underart | Reservoir/värd djur | Autoinducerare/transkriptions-regulator | Fenotyp/ Effekt av Quorum | Referens |
|-------------------------------|--|---|--|--|
| <i>E. coli</i> | /De flesta djur, människa och fåglar | LsrR RsbR SidA | Transkriptions-reglering. Överföring av virulensgener, adherering, sekretion, celledelning, motilitet | (Turovskiy et al. 2007; Styles and Blackwell 2018) |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> | Många djurslag inklusive människa | Lsr/LsrK/lsrR SidA (luxR homolog) | virulensfaktorer | (Styles and Blackwell 2018) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Miljö/ nöt, hund, häst, fåglar, reptiler, människa | Har ingen luxS och producerar därför ingen egen AI2 signal. Men känner ändå av AI2 genom oklar mekanism | Biofilm och virulensfaktorer | (Li et al. 2015, p. 1) |
| <i>Vibrio harveyi</i> | Havet | LuxS/LuxPQ | Bioluminescence, proteas- och siderofor-produktion, | (Federle and Bassler 2003). |

QUORUM QUENCHING OCH ANTIMIKROBIELL AKTIVITET

Antibiotikaresistens är en av de största svårigheterna inom medicin i dagsläget och problemen har uppstått till följd av årtionden av hög antibiotikaanvändning. Detta har lett till att forskare måste hitta alternativa vägar för behandling av infektioner som orsakats av resistent bakterier. De flesta av de multiresistenta stammarna använder sig av QS, därför pågår omfattande forskning kring att utveckla QS-hämmare (QSI quorum sensing inhibitors). QSI innebär en påverkan av autoinducerarna så bakterierna inte längre kan utföra den tänkta mekanismen som virulens, biofilm och slutligen infektion. Hämmningen av den bakteriella kommunikationen kallas för quorum quenching, där quenching kan översattas till att dämpa, vilket således är motsatsen till quorum sensing (Guendouze et al. 2017).

Produktion av AI1-hämmare skulle innebära ett målinriktat antimikrobiellt medel som bara slår ut den specifika bakteriestammen då man endast påverkar intraspecieskommunikationen, till skillnad från framställning av AI2-hämmare, som blir breda spektra antimikrobiella medel eftersom man påverkar interspecieskommunikationen (Federle and Bassler 2003).

Det finns ett flertal sätt att åstadkomma quorum quenching, men kostnaderna för framställning och utveckling av QSI gör att det vetenskapliga arbetet stundvis stagnerar och hittills verkar det bara ha gjorts ett fåtal kliniska studier, med varierande resultat. Flertalet forskare är däremot överens om att QSI är något som kommer kunna utnyttjas i framtiden för att dämpa infektion (Federle and Bassler 2003; Kaufmann et al. 2008; Swem et al. 2009).

Tänkbara quorum quenching metoder

Autoinducerar-receptorantagonister

AI-antagonister binder till den tänkta receptorn genom att ta de riktiga autoinducerarnas plats, vilket leder till en utebliven signalkaskad. Det finns många AI-antagonister att nämna, men några exempel är:

- **Agr-antagonister:** Som nämnt tidigare kan en stam av *S. aureus* hämma virulens av en annan stam av *S. aureus* genom längden på dess AIP. Genom att använda hybrider av AIP kan ett kompetitivt övertag av receptorer uppnås hos *S. aureus* eftersom de binder in till samma gruppsspecifika receptor. Det leder således till att man inte får en aktivering av signalkaskaden (Lyon et al. 2000). Dock återstår problemet att en hämning av agr leder till produktion av biofilm och syntes av protein A, vilket ändå skyddar bakterien (Kaufmann et al. 2008).
- **Halogenerade furanoner:** Bildas av *Delisea pulchra*-alger. De hämmar QS då de påverkar LuxR-homologer, vilket leder till en proteolytisk nedbrytning av transkriptionsregulatorn som bland annat har effekt hos *E. coli*. Forskare har dock hittills inte kunnat påvisa ett stabilt komplex mellan furanonerna och luxR, men en reduktion av LuxR har kunnat mätas när furanonerna är närvarande (Manefield et al. 2002).

Hämma syntesen av autoinducerare

Här sker en påverkan av syntesen av LuxI-lik protein.

- **MTAN (5'-Methylthioadenosine nucleosidase)-hämmare:** MTAN är ett enzym som krävs för att upprätthålla homeostas i bakterier. En MTAN-hämmare gör att syntesen av autoinducerare stannar av hos bland andra *V. cholerae* och *E. coli* O157. Det hämmar bland annat biofilmsformation vilket gör att man lättare kan slå ut bakterierna (Gutierrez et al. 2009).
- **S-adenosylmethionine (SAM)-hämmare:** Genom att hämma syntes av SAM, som är ett substrat i signalvägen att producera AHL (Gutierrez et al. 2009), eller genom att hämma ett reduktas som behövs i AI-produktionen sker ingen syntes av QS-signaler (Dong et al. 2007).

Inaktivering av autoinducerare

- **Inhibera AI med antikroppar:** Antikropparna opsoniserar AI-receptorerna vilket gör det lättare för kroppens egna immunförsvar att ta hand om AI och signalkaskaden uteblir. Antikropparna kan även hämma agr-systemet hos *S. aureus* (Rutherford and Bassler 2012). Denna vaccinationsstrategi finns för både *S. aureus* och *P. aeruginosa* men har inte klarat de kliniska testerna än (Kaufmann et al. 2008)
- **Kemisk inhibering:** Ett mer basiskt pH i miljön gör att laktoringarna hos gramnegativa bakterier öppnar sig och leder därför till hämmad signalkaskad, vilket vissa plantor kan göra för att skydda sig mot bakterieinfektioner av till exempel *Erwinia carotowara* (Byers et al. 2002).

Nedbrytning eller inhibering av autoinducerare

- **Lactonaser:** Lactonaser (AiiA) produceras av gramnegativa bakterier som till exempel bacillus-släktet. De bryter ner laktonringen från andra bakterier genom hydrolysis vilket leder till ofunktionella AHL.
Ett laktonas kallat SsoPox från arkéerna *Sulfolobus solfataricus*, har påvisats bryta ner AHL hos *P. aeruginosa* hos råttor med den typen av pneumoni. Studien tyder på att det motverkar biofilmsformation och därmed sänkte mortaliteten hos råttorna (Hraiech et al. 2014). Ingen skadlig effekt av SsoPox har påvisats in vitro, vilket innebär att den borde kunna användas till exempel på katetrar på sjukhus för att minska biofilmsformation (Guendouze et al. 2017).
- **AHL acylaser** klyver sidokedjan av AHL och gör därmed AHL-molekylen ofunktionell (Defoirdt et al. 2010).

Hämna sekretionen eller transport av autoinducerare

P. aeruginosa har flera effluxpumpar och låg permeabilitet i sitt yttre membran, vilket gör att den effektivt kan stå emot både antibiotika och rengöringsmedel (de Kievit and Iglewski 2000).

- **Överuttryck av effluxpumpen MDR MexCD-OprJ hos *P. aeruginosa*** kommer även nedsätta produktionen av nya AHL och därför kommer QS hämmas (Alcalde-Rico et al. 2018).
- **Påverkan av effluxpumpen MexAB-OprM** kan även leda till inflytande på Las-genuttrycket vilket leder till att distributionen av AHL sker för tidigt. Det innebär att värdens immunförsvar kommer ha en bättre förmåga att ta hand om bakterierna (Pearson et al. 1999; de Kievit and Iglewski 2000).

Tabell 4. Översikt av utvalda quorum quenching mekanismer

| Bakterie art/underbart | Quorum enzym | Quenching | Fenotyp/ Effekt av QQ | Referens |
|--|--|-----------|--|--|
| <i>Agrobacterium tumefaciens</i> | BlcC (hör till aiiA familjen) | | Hämmar plasmidöverföring | (White and Finan 2009) |
| <i>Bacillus cereus</i> | Autoinducer inactivation gene A (AiiA) lactonas | | Hydrolyserar laktonringen hos AHL proteobakterier | (White and Finan 2009) |
| <i>E. coli</i> | Halogenerade furanoner MTAM-hämmare | | Proteolytisk nedbrytning av transkriptionsregulatorn Hämmar syntes av AHL | (Manefield et al. 2002; Gutierrez et al. 2009) |
| <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> | PAOI bildad av baicalein (härstammar från en plantrot av scutellaria) | | Hämmar biofilmsformation hos <i>P. aeruginosa</i> och ger proteolys TraR hos <i>E. coli</i> | (Zeng et al. 2008) |
| <i>P. aeruginosa</i> | lactonas SsoPox från arkéen <i>Sulfolobus solfataricus</i> Qsla Påverkan av effluxpumpar | | Bryter ner signalmolekylerna AHL och hämmar då biofilmsformation, proteas och pyocyanin Hämmar gentranskription | (Guendouze et al. 2017) . |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> | SidA antagonister | | Hämmar gentranskription hos ett flertal andra bakteriestammar, breda spektra användning. | (Styles and Blackwell 2018) |
| <i>S. aureus</i> | Agr-antagonister | | Blockerar signalöverföring av andra stammar vilket ger de en kompetitivt övertag. | (Lyon et al. 2000) |

Bakterier har alltid använt sitt eget system för att inhibera varandra där de angriper QS. Många av de ovan nämnda processerna kan uppnås in vitro genom syntetiska eller biologiska alternativ som fytochemikalier, där man har studerat hur naturens egna substanser kan påverka quorum sensing (Koch et al. 2005; Defoirdt et al. 2010). Några att nämna med effekt på autoinducerare är furocomariner, furanoner och tanniner, men svårigheten kommer i att få dem riktade enbart mot AI1 och AI2 och på så vis vara säkert för patienten (Sankar Ganesh and Ravishankar Rai 2018).

Resistensutvecklingsteorier kopplat till quorum quenching

Vissa studier indikerar att problemet med ökningen av resistenta bakterier kan åtgärdas genom att använda sig av QQ istället för klassisk antibiotika (Cappellaro et al. 1998; Koch et al. 2005). Dessa forskare menar att QSI-molekylerna inte påverkar DNA/RNA direkt, varvid det selektiva trycket för resistens minskar eftersom det endast sker en påverkan av bakteriernas kommunikationsförmåga och inte deras tillväxt (Federle and Bassler 2003) (Hentzer et al. 2003; Rasko et al. 2008). Till skillnad från vanlig antibiotikaresistens där man ser en ökad bakterietillväxt, så kommer bakterierna med resistens mot QSI-antagonister ödsla sin energi på att bilda QS-signaler utan att få gensvar, vilket är anledningen till att vi snarare borde se en generell minskning av bakteriell resistens (Swem et al. 2009). De hävdar även att om det bildas mutationer i LuxR som gör bakterierna immuna mot AI-antagonister, så har det ingen betydelse, eftersom resterande bakterier som inte utvecklats samma mutation ändå inte kommer svara på signalerna (Swem et al. 2009).

Andra hypoteser är att man bör använda quorum quenching synergiskt med konventionell antibiotika för att slå ut bakterierna. Kombinationsmedicineringen skulle medföra en minskning av dosen av antibiotikan, varvid den generella resistensutvecklingen kommer ta längre tid (Koch et al. 2005; Hraiech et al. 2014; Vasudevan et al. 2018; Ivanova et al. 2018; Narendrakumar et al. 2018). Resistensöverföringen sker dessutom ofta via konjugation, vilket kan vara ett QS-drag (White and Finan 2009). Eftersom påverkan av QS-mekanismen gör att konjugationen uteblir borde dessutom den generella resistensutvecklingen minska.

Andra forskare menar att resistensutveckling mot QQ redan pågår hos vissa stammar av bakterier där det skett mutationer i mexR-genen, vilket verkar leda till resistens mot furanon-receptorantagonister. Det påvisades 2011 hos patienter med *P. aeruginosa* med cystisk fibros (Maeda et al. 2012).

DISKUSSION

Komplexiteten av ämnet, den begränsande tiden och arbetets omfattning gjorde att det inte fanns möjlighet att gå in på detaljer kring alla mekanismerna för hur QS och QQ fungerar. Jag fick dessutom begränsa mig i vilka QSI-tekniker och substanser det fanns utrymme att redovisa. Möjligheten finns att andra tekniker än de jag beskrivit har mer forskning bakom sig.

Bakterier har ett komplext samspel, vilket utspelar sig med hjälp av AI som skiljer sig mellan inter- och intraspecieskommunikation. Samspelet syftar till att taktiskt koordinera sitt gensvar för virulens för att lyckas infektera en värd på det mest energieffektiva sättet. Det sker då det förkommer högst densitet av bakterierna, och känns av med hjälp av AI (Schauder et al. 2001; Williams 2007; Schluter et al. 2016). Möjligen är definitionen ”kommunikation” något för trivial i sammanhanget eftersom det snarare syftar till att skapa en generell förståelse hos allmänheten. Det råder dock inget tvivel om att bakterier kan särskilja sig själva från andra arter genom dessa signalsubstanser (McFall-Ngai et al. 2012). Evolutionsfrågor dyker upp fortgående under denna litteraturstudie, troligen skiljer sig AI2 från AI1, då AI2 möjligen var de första autoinducerna bakterier använde sig av innan man såg en fylogenetisk uppdelning mellan gramnegativa och grampositiva bakterier.

QSI fungerar genom ett flertal mekanismer där man hindrar autoinducerarna att binda in till sin receptor och därmed kan de inte skapa det koordinerade gensvaret som leder till infektion (Federle and Bassler 2003). QSI verkar vara något man kan använda inom de flesta områden där syftet är att reducera bakterievirulens (Hentzer et al. 2003). Förslagen på användningsområden är obegränsade och kan vara allt ifrån att ersätta antibiotika, slå in köttfärs på matbutiker (Smith et al. 2004), hämma biofilm på permanentkanyler och katetrar (Guendouze et al. 2017) till att göra dricksvatten mer hygieniskt (Yeon et al. 2009). Dock finns viss problematik kring hämmande av virulensgener genom QSI, där man till exempel observerat att en inaktivering av agr på *S. aureus* leder till biofilmsformation och därmed blir det åter igen svårare att komma åt bakterien (Rutherford and Bassler 2012). Dessutom är det viktigt att tänka på den generella säkerheten för patienten om man använder fytokemikalier (Koch et al. 2005; Defoirdt et al. 2010).

Ytterligare forskning är nödvändig för att kunna säkerställa hur QSI kan användas. Det finns ett stort behov av såväl in vivo studier, samt forskning på bieffekter och resistensutvecklingen är svår att förutse. Flertalet artiklar tyder på att det optimala användningssättet för QSI är synergiskt med konventionell antibiotika, vilket rimligen hämmar den vanliga resistensutvecklingen då man rent hypotetiskt bör kunna använda lägre doser av antibiotikan (Koch et al. 2005; Hraiech et al. 2014; Vasudevan et al. 2018; Ivanova et al. 2018; Narendrakumar et al. 2018). Problemet med resistenta bakterier kommer alltid att finnas, varvid fokus bör ligga på utvidgad global kunskap kring antibiotikaanvändning och hur man ska använda QSI på rätt sätt när den tiden kommer. Att behandla på individnivå, och enbart medicinera vid behov efter bakterieodling med efterföljande resistensundersökning vore optimalt, men det är en utmaning i flera delar av världen där möjligheterna ser annorlunda ut.

Dynamiken av miljön och autoinducerarna väger en mycket tyngre roll än vad jag kunnat sätta mig in i inför denna studie. Oavsett är det viktigt att inte glömma att kopplingen till miljön och värden finns. Denna yttre påverkan kommer med vissa svårigheter när man testar läkemedel in vitro eftersom man därmed inte fått den fulla förståelsen för hur den exakta cellkommunikationen faktiskt sker (Kievit 2009). Forskning tyder på att AIP kan påverka både det endokrina och neuronala systemet hos värdjuret varvid vikten av miljöaspekten ihop med quorum sensing skulle bli nästa del i denna litteraturstudie om det fanns rum.

SLUTSATS

Konklusionen av litteraturstudien är att bakterier använder sig av både intra- och interspecieskommunikation med arts specifika autoinducerare. Autoinducerarna är beroende av celldensitet för att uttrycka gensvar när det är mest energieffektivt för bakterien, vilket är då det är högst sannolikhet att bakterien ska lyckas infektera en värd. Genom flera lovande strategier kan forskare använda QSI för att reducera bakteries virulens och därmed kan detta komma att bli ett alternativ för terapeutiska behov. Än krävs det mer forskning och djupare förståelse för hur QSI ska användas in vivo, eftersom detaljerad undersökning kring QSI och kliniska försök fortfarande är fåtaliga. Det råder delade meningar angående resistensutveckling mot QSI men forskare är ense om att QSI har stora potential för att hämma bakteriell virulens i framtiden.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Alcalde-Rico, M., Olivares-Pacheco, J., Alvarez-Ortega, C., Cámara, M., Martínez, J.L. (2018). Role of the Multidrug Resistance Efflux Pump MexCD-OprJ in the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Response. *Frontiers in Microbiology*. 9: 2752.
- Ali, L., Goraya, M.U., Arafat, Y., Ajmal, M., Chen, J.-L., Yu, D. (2017). Molecular Mechanism of Quorum-Sensing in *Enterococcus faecalis*: Its Role in Virulence and Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(5): 960. <https://doi.org/10.3390/ijms18050960> [2019-03-28]
- Bassler, B.L., 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.
- Byers, J.T., Lucas, C., Salmond, G.P.C., Welch, M. (2002). Nonenzymatic Turnover of an *Erwinia carotovora* Quorum-Sensing Signaling Molecule. *Journal of Bacteriology*. 184: 1163–1171.
- B.W Jones & M. K. Nishiguchi. (2003). Counterillumination in the Hawaiian bobtail squid, *Euprymna scolopes* Berru (Mollusca: Cephalopoda). *Marine biology* 144(6):1151-1155.
- Cline, T.W., Hastings, J.W. (1972). Mutationally altered bacterial luciferase. Implications for subunit functions. *Biochemistry* 11 (18): 3359–3370.
- de Kievit, T.R., Iglewski, B.H. (2000). Bacterial Quorum Sensing in Pathogenic Relationships. *Infection and Immunity*. 68(9): 4839–4849.
- Defoirdt, T., Boon, N., Bossier, P. (2010). Can Bacteria Evolve Resistance to Quorum Sensing Disruption? *PLoS Pathogens*. 6(7). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000989> [2019-02-20]
- Dong, Y.-H., Wang, L.-H., Zhang, L.-H. (2007). Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. *Philosophical Transactions of the Royal Society. B Biol. Sci.* 362: 1201–1211.
- Federle, M.J., Bassler, B.L. (2003). Interspecies communication in bacteria. *The Journal of Clinical Investigation*. 112(9): 1291–1299.
- Folkesson, A., Jelsbak, L., Yang, L., Johansen, H.K., Ciofu, O., Høiby, N., Molin, S. (2012). Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to the cystic fibrosis airway: an evolutionary perspective. *Nature Reviews Microbiology*. 10: 841–851.
- Fuqua, W.C., Winans, S.C., Greenberg, E.P. (1994). Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *Journal of Bacteriology*. 176(2): 269–275.
- Guendouze, A., Plener, L., Bzdrenga, J., Jacquet, P., Rémy, B., Elias, M., Lavigne, J.-P., Daudé, D., Chabrière, E. (2017). Effect of Quorum Quenching Lactonase in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and Comparison with Quorum Sensing Inhibitors. *Frontiers in Microbiology* 8: 227.
- Gutierrez, J.A., Crowder, T., Rinaldo-Matthis, A., Ho, M.-C., Almo, S.C., Schramm, V.L. (2009). Transition state analogues of 5'-methylthioadenosine nucleosidase disrupt quorum sensing. *Nature Chemical Biology*. 5(4), 251–257.
- Hentzer, M., Wu, H., Andersen, J.B., Riedel, K., Rasmussen, T.B., Bagge, N., Kumar, N., Schembri, M.A., Song, Z., Kristoffersen, P., Manefield, M., Costerton, J.W., Molin, S., Eberl, L., Steinberg, P., Kjelleberg, S., Høiby, N., Givskov, M. (2003). Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *The EMBO Journal*. 22(15), 3803–3815.

- Hraiech, S., Hiblot, J., Lafleur, J., Lepidi, H., Papazian, L., Rolain, J.-M., Raoult, D., Elias, M., Silby, M.W., Bzdrenga, J., Bregeon, F., Chabriere, E. (2014). Inhaled Lactonase Reduces *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing and Mortality in Rat Pneumonia. *PLoS ONE*. 9(10): e107125.
- Ivanova, A., Ivanova, K., Tzanov, T. (2018). Inhibition of Quorum-Sensing: A New Paradigm in Controlling Bacterial Virulence and Biofilm Formation, in: Kalia, V.C. (Ed.), *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*. Springer Nature Singapore. pp. 3–21. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9026-4_1 [2019-02-20]
- Kaufmann, G.F., Park, J., Janda, K.D. (2008). Bacterial quorum sensing: a new target for anti-infective immunotherapy. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 8(6): 719–724.
- Kievit, T.R.D. (2009). Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Environmental Microbiology*. 11(2): 279–288.
- Koch, B., Liljefors, T., Persson, T., Nielsen, J., Kjelleberg, S., Givskov, M. (2005). The LuxR receptor: the sites of interaction with quorum-sensing signals and inhibitors. *Microbiology society*. 151: 3589–3602.
- Kolenbrander, P.E., Andersen, R.N., Blehert, D.S., Eglund, P.G., Foster, J.S., Palmer, R.J., 2002. Communication among Oral Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66 (3): 486–505.
- Li, H., Li, X., Wang, Z., Fu, Y., Ai, Q., Dong, Y., Yu, J. (2015). Autoinducer-2 regulates *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm formation and virulence production in a dose-dependent manner. *BMC Microbiology* 15:192. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0529-y> [2019-02-26]
- Lupp, C., Urbanowski, M., Greenberg, E.P., Ruby, E.G. (2003). The *Vibrio fischeri* quorum-sensing systems *ain* and *lux* sequentially induce luminescence gene expression and are important for persistence in the squid host. *Molecular Microbiology*. 50(1): 319–331.
- Lyon, G.J., Mayville, P., Muir, T.W., Novick, R.P. (2000). Rational design of a global inhibitor of the virulence response in *Staphylococcus aureus*, based in part on localization of the site of inhibition to the receptor-histidine kinase, AgrC. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*. 97(24): 13330–13335.
- Maeda, T., García-Contreras, R., Pu, M., Sheng, L., Garcia, L.R., Tomás, M., Wood, T.K. (2012). Quorum quenching quandary: resistance to antivirulence compounds. *International Society for Microbial Ecology Journal*. 6, 493–501.
- Manefield, M., Rasmussen, T.B., Henzter, M., Andersen, J.B., Steinberg, P., Kjelleberg, S., Givskov, M. (2002). Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover. *Microbiology publishing for the community*. 148: 1119–1127.
- McFall-Ngai, M., Heath-Heckman, E.A.C., Gillette, A.A., Peyer, S.M., Harvie, E.A. (2012). The secret languages of coevolved symbioses: insights from the *Euprymna scolopes-Vibrio fischeri* symbiosis. *Seminars in Immunology*. 24(1): 3–8.
- McGuinness, W.A., Malachowa, N., DeLeo, F.R. (2017). Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 90: 269–281.
- Monnet, V., Gardan, R. (2015). Quorum-sensing regulators in Gram-positive bacteria: ‘cherchez le peptide. *Molecular Microbiology*. 97(2): 181–184.
- Narendrakumar, L., Das, B., Paramasivan, B., Rasu, J., Thomas, S. (2018). Quorum Quenching and Biofilm Inhibition: Alternative Imminent Strategies to Control the Disease Cholera. Publicerad i: Kalia, V.C. (Ed.), *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*. Singapore. Springer

Nature Singapore Pte Ltd: s. 63–85.

Nationaleyklopedin (2019-03-28). *Quorum*. <http://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/lång/quorum> [2019-02-26]

Nealson, K.H., Platt, T., Hastings, J.W., 1970. Cellular Control of the Synthesis and Activity of the Bacterial Luminescent System. *Journal of Bacteriology* 104(1): 313-322.

Parsek, M.R., Greenberg, E.P. (2000). Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: A signaling mechanism involved in associations with higher organisms. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 97(16), 8789–8793.

Pearson, J.P., Van Delden, C., Iglewski, B.H. (1999). Active efflux and diffusion are involved in transport of *Pseudomonas aeruginosa* cell-to-cell signals. *Journal of Bacteriology*. 181(14), 1203–1210.

Pesci, E.C., Milbank, J.B., Pearson, J.P., McKnight, S., Kende, A.S., Greenberg, E.P., Iglewski, B.H., (1999). Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 96(20), 11229–11234.

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., (2008). Targeting QseC Signaling and Virulence for Antibiotic Development. *Science (New York, N. Y.)*. 321(5892), 1078–1080.

Rickard, A.H., Palmer, R.J., Blehert, D.S., Campagna, S.R., Semmelhack, M.F., Eglund, P.G., Bassler, B.L., Kolenbrander, P.E. (2006). Autoinducer 2: a concentration-dependent signal for mutualistic bacterial biofilm growth. *Molecular Microbiology*. 60(6): 1446–1456.

Rutherford, S.T., Bassler, B.L. (2012). Bacterial Quorum Sensing: Its Role in Virulence and Possibilities for Its Control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2(11), a012427. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427> [2019-02-26]

Sankar Ganesh, P., Ravishankar Rai, V. (2018). Alternative Strategies to Regulate Quorum Sensing and Biofilm Formation of Pathogenic *Pseudomonas* by Quorum Sensing Inhibitors of Diverse Origins. Publicerad i: *Kalia, V.C. (Ed.), Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*. Singapore. Springer Nature Singapore Pte Ltd: sida 33–61.

Schauder, S., Shokat, K., Surette, M.G., Bassler, B.L. (2001). The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Molecular Microbiology*. 41(2): 463–476.

Schluter, J., Schoech, A.P., Foster, K.R., Mitri, S. (2016). The Evolution of Quorum Sensing as a Mechanism to Infer Kinship. *PLoS Computational Biology*. 12(4), e1004848. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004848> [2019-02-27]

Smith, J.L., Fratamico, P.M., Novak, J.S. (2004). Quorum sensing: a primer for food microbiologists. *Journal of Food Protection*. 67(5), 1053–1070.

Styles, M.J., Blackwell, H.E. (2018). Non-native autoinducer analogs capable of modulating the SdiA quorum sensing receptor in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 14: 2651–2664.

- Swem, L.R., Swem, D.L., O'Loughlin, C.T., Gatmaitan, R., Zhao, B., Ulrich, S.M., Bassler, B.L., (2009). A Quorum-Sensing Antagonist Targets Both Membrane-Bound and Cytoplasmic Receptors and Controls Bacterial Pathogenicity. *Molecular Cell*. 35(2): 143–153.
- Throup, J.P., Camara, M., Briggs, G.S., Winson, M.K., Chhabra, S.R., Bycroft, B.W., Williams, P., Stewart, G.S.A.B. (1995). Characterisation of the *yenI/yenR* locus from *Yersinia enterocolitica* mediating the synthesis of two N-acylhomoserine lactone signal molecules. *Molecular Microbiology*. 17(2): 345–356.
- Turovskiy, Y., Kashtanov, D., Paskhover, B., Chikindas, M.L. (2007). Quorum Sensing: Fact, Fiction, and Everything in Between. *Advances in Applied Microbiology*. 62: 191–234.
- Vasudevan, S., Swamy, S.S., Kaur, G., Princy, S.A., Balamurugan, P., 2018. Synergism Between Quorum Sensing Inhibitors and Antibiotics: Combating the Antibiotic Resistance Crisis. Publicerad i: *Kalia, V.C. (Ed.), Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*. Singapore. Springer Nature Singapore Pte Ltd: sida 209–225.
- Wei, Y., Perez, L.J., Ng, W.-L., Semmelhack, M.F., Bassler, B.L. (2011). Mechanism of *Vibrio cholerae* Autoinducer-1 Biosynthesis. *ACS Chemical Biology*. 6(4), 356–365.
- White, C.E., Finan, T.M. (2009). Quorum Quenching in *Agrobacterium tumefaciens*: Chance or Necessity?. *Journal of Bacteriology*. 191(4): 1123–1125.
- Wier, A.M., Nyholm, S.V., Mandel, M.J., Massengo-Tiassé, R.P., Schaefer, A.L., Koroleva, I., Splinter-BonDurant, S., Brown, B., Manzella, L., Snir, E., Almabrazi, H., Scheetz, T.E., de Fatima Bonaldo, M., Casavant, T.L., Soares, M.B., Cronan, J.E., Reed, J.L., Ruby, E.G., McFall-Ngai, M.J., (2010). Transcriptional patterns in both host and bacterium underlie a daily rhythm of anatomical and metabolic change in a beneficial symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 107(5), 2259–2264.
- Williams, P. (2007). Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiology*. 153: 3923–3938.
- Yeon, K.-M., Cheong, W.-S., Oh, H.-S., Lee, W.-N., Hwang, B.-K., Lee, C.-H., Beyenal, H., Lewandowski, Z., 2009. Quorum Sensing: A New Biofouling Control Paradigm in a Membrane Bioreactor for Advanced Wastewater Treatment. *Environmental Science Technology*. 43(2), 380–385.
- Zeng, Z., Qian, L., Cao, L., Tan, H., Huang, Y., Xue, X., Shen, Y., Zhou, S., 2008. Virtual screening for novel quorum sensing inhibitors to eradicate biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology Biotechnology*. 79: 119–126.