

# MECANISMOS DE RESPOSTA E REGULAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM *SALMONELLA* *ENTERICA*

---

Data de aceite: 01/02/2024

### **Eduardo de Paula Nascente**

Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Universidade Federal de Goiás  
Goiânia – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/1827127305090157>

### **Ursula Nunes Rauecker**

Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Goiânia – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/2867564972215554>

### **Ana Maria de Souza Almeida**

Universidade Federal de Goiás  
Goiânia – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/8462560870100009>

### **Mariana Moreira Lopes**

Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Goiânia – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/2253207606560844>

### **Maria Auxiliadora Andrade**

Universidade Federal de Goiás  
Goiânia – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/9441751521255467>

### **Moema Pacheco Chediak Matos**

Universidade Federal de Goiás  
Goiânia – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/6513964838316485>

### **Lívia Mendonça Pascoal**

Universidade Federal de Goiás  
Goiânia – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/9516000855522978>

**RESUMO:** Da mesma forma que ocorre com outras bactérias, certos sorovares de *Salmonella* sp. desenvolveram estratégias defensivas eficazes para evitar o estresse oxidativo provocado pelas espécies reativas de oxigênio, especialmente quando confrontados com doses subletais. Para além do estresse oxidativo, os microrganismos enfrentam outros fatores estressantes, como estresse ácido e térmico, mudanças osmóticas e escassez de água. Esses desafios são frequentemente explorados pela indústria como métodos alternativos à destruição microbiana. Compreender e estudar os mecanismos por trás desse processo têm sido necessários para determinar a ativação de novos genes envolvidos na resposta adaptativa ao estresse, mas também a fatores de virulência presentes durante a infecção bacteriana no hospedeiro. Assim, o conjunto dessas informações é necessário para elaboração de novos produtos

antimicrobianos, bem como, melhor compreensão da virulência e patogênese de *Salmonella enterica*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bacteriologia; Estresse; Salmonelose; Saúde pública.

## RESPONSE MECHANISMS AND REGULATION OF OXIDATIVE STRESS IN *SALMONELLA ENTERICA*

**ABSTRACT:** Similar to other bacteria, certain serovars of *Salmonella* sp. have developed effective defensive strategies to counter oxidative stress induced by reactive oxygen species, especially when exposed to sublethal doses. Beyond oxidative stress, microorganisms encounter additional stressors such as acid and thermal stress, osmotic changes, and water scarcity. These challenges are often explored by the industry as alternative methods to microbial destruction. Understanding and studying the mechanisms behind this process are necessary not only to determine the activation of new genes involved in the adaptive stress response but also to identify virulence factors present during bacterial infection in the host. Thus, this information is essential for the development of new antimicrobial products, as well as for a better understanding of the virulence and pathogenesis of *Salmonella enterica*.

**KEYWORDS:** Bacteriology; Stress; Salmonellosis; Public Health.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Salmonella*, pertencente família *Enterobacteriaceae*, é constituído por bactérias gram-negativas, com capacidade de infectar humanos e animais. É subdividida em duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, de forma que a primeira apresenta numerosos sorovares típicos e não típicos (GRIMONT; WEILL, 2007). Em contraste com as salmonelas tifoides, que são patógenos restritos às infecções em seres humanos, sorovares não tifoidais, como Enteritidis e Typhimurium, são capazes de infectar uma grande variedade de hospedeiros, causando quadro severo de gastroenterite (LAROOCK; CHAUDHARY; MILLER, 2015).

Surtos de salmonelose em seres humanos têm sido associados a diferentes fontes de infecção. Casos recentes têm sido relacionados à transmissão da bactéria por alimentos de origem animal, frutas, contato com aves domésticas e em animais de vida livre (CHILLER, 2019; MBA-JONAS et al., 2018; ANDERSON et al., 2016; GAMBINO-SHIRLEY et al., 2018). Em sistemas de produção animal, avicultura, suinocultura, e recentemente, bovinocultura, são apontados como grandes problemas emergentes de saúde pública (ANDERSON et al., 2016; GOSLING et al., 2018). Este fato é agravado pela participação de sorovares altamente patogênicos e zoonóticos, como *Salmonella* Enteritidis e Choleraesuis resistentes a antimicrobianos (BORGES et al., 2017; MOLINO et al., 2019).

Muitos dos surtos causados, tanto em humanos quanto em sistemas de produção animal, estão relacionados a sorovares multirresistentes a diversos antibióticos (GIERALTOWSKI et al., 2016). A resistência antimicrobiana emergiu em *Salmonella* Typhi,

Paratyphi e Typhimurium, inicialmente aos medicamentos tradicionais de primeira linha, como cloranfenicol, ampicilina e trimetoprim-sulfametoxazol (CRUMP et al., 2015). Além disso, alguns sorovares têm apresentado susceptibilidade reduzida aos desinfetantes comerciais à base de cloro e peróxido de hidrogênio (LONG et al., 2016).

A maioria dos antimicrobianos e biocidas disponíveis no mercado, promovem a destruição bacteriana causando a oxidação de diferentes moléculas da célula (HARMS; MAISONNEUVE; GERDES, 2016). O estresse oxidativo promove alterações significativas na fluidez de membrana pelas modificações na composição dos lipídios, danos às proteínas e, conseqüentemente, inativação de sistemas enzimáticos e destruição de DNA (YUN et al., 2016; EZRATY et al., 2017).

Entretanto, assim como outras bactérias, alguns sorovares de *Salmonella* sp. foram capazes de adquirir medidas defensivas suficientes para evitar o estresse oxidativo causado pelas espécies reativas de oxigênio, principalmente quando expostas a doses subletais (IMLAY, 2013). Desta forma, a extensa exposição a antibióticos e desinfetantes podem causar adaptação dos microrganismos ao estresse oxidativo, aumentando sua capacidade de resistência não só no ambiente, mas também na evasão do sistema imune durante a infecção, uma vez que macrófagos e neutrófilos produzem espécies reativas de oxigênio (ROMERO et al., 2017).

Além do estresse oxidativo, existem outros fatores estressantes aos quais os microrganismos são expostos, como estresse ácido e térmico, alterações osmóticas e baixa disponibilidade de água, sendo explorados principalmente pela indústria de alimentos como métodos alternativos a destruição microbiana (STORZ; HENGGE, 2011). Entretanto, compreender a ação das espécies reativas de oxigênio sobre a sobrevivência bacteriana, bem como, a resposta celular envolvida é de extrema importância para explorar e elaborar estratégias eficazes para o combate aos microrganismos, em especial, diferentes sorovares de *Salmonella enterica* de importância em saúde pública.

Neste contexto, o objetivo desta revisão é abordar os principais tipos de estresse em *Salmonella enterica*, com enfoque aos mecanismos de resposta e regulação gênica utilizados por esse patógeno durante o estresse oxidativo, seja ele exógeno ou endógeno.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Estresse bacteriano

Em ambientes naturais (exógenos) ou durante os processos envolvidos na infecção e colonização no hospedeiro (endógeno), as bactérias estão expostas à diferentes condições adversas que podem interferir na sua sobrevivência e desenvolvimento. Dentre os principais fatores estressantes que podem promover o chamado estresse bacteriano, pode-se citar o estresse ácido, osmótico, de dessecação ou hídrico, térmico e o oxidativo. O estado de

estresse promove desequilíbrio significativo na homeostase celular, impondo modificações em atividades enzimáticas específicas, disponibilidade de nutrientes, modificações na membrana celular e alterações morfológicas de macromoléculas, que na maioria das vezes resultará na morte do microrganismo (SLEATOR; HILL, 2002).

Entretanto, para sobreviverem a essas condições, alguns microrganismos desenvolveram a capacidade de responderem simultaneamente a uma ampla variedade de tensões, de forma que os vários sistemas de respostas ao estresse interagem entre si por um complexo de redes regulatórias. Esses sistemas são coordenados por proteínas envolvidas na transcrição bacteriana, que regulam a expressão de diversos genes, variando de acordo com o tipo de estresse ao qual a bactéria é exposta. Esses genes permitem a sobrevivência da bactéria no meio ambiente, desempenhando também um papel importante na virulência de espécies, como por exemplo, em *Salmonella enterica* e *Escherichia coli* (REQUENA, 2012).

## Estresse ácido

A resposta ao estresse ácido é um fenômeno complexo que envolve diversas modificações na expressão de proteínas e alguns eventos associados a nível de regulação gênica (FOSTER, 1995). As bactérias conseguem crescer em ambientes com diferentes concentrações de íons hidrogênio, sendo divididas em acidófilas, neutrofílicas e alcalifílicas, de modo que as pertencentes a este último grupo são as de maior importância em saúde humana e animal (MOAT; FOSTER; SPECTOR, 2002).

Entretanto, *Escherichia coli* e *Salmonella enterica*, são espécies bacterianas com capacidade de crescerem em pH ente 6,5-7,5. Quando em estresse ácido, ocorre a produção de enzimas que realizam a conversão de metabólitos ácidos em neutros ou metabólitos neutros em produtos alcalinos. As principais enzimas envolvidas nesse processo incluem a glutamato descarboxilase, lisina descarboxilase e a arginina descarboxilase. As bactérias gram-negativas realizam principalmente a modulação das bombas primárias de prótons, bem como, dos antiportadores de  $K^+/H^+$  e  $Na^+/H^+$  (MOAT; FOSTER; SPECTOR, 2002).

Estudos demonstram que diferentes sorovares de *Salmonella enterica* conseguem tolerar ambiente ácido letal, induzindo sistemas de resposta adaptativa de tolerância ao ácido, caracterizada pelo envolvimento de mais de 40 proteínas de choque ácido (LEE; SLONCZEWSKI; FOSTER, 1994). Essas proteínas são produzidas em condições de pH subletal, aumentando a capacidade do microrganismo sobreviver em condições com níveis de pH que seriam letais (BAIK et al., 1996).

Devido a isso, existe uma variabilidade fenotípica entre amostras de *Salmonella enterica* em relação às respostas ao estresse ácido, conforme demonstrado em estudo realizado por Lianou; Nychas; Koutsoumanis (2017), ao avaliarem oito sorovares diferentes. Esses autores observaram que na maioria das amostras avaliadas, algumas

exibiram resistência ao ambiente ácido semelhante ou inferior aos seus homólogos não tratados. Para explicar essa diferença entre sorovares ainda são necessários estudos que avaliem tanto a fluidez de membrana, quanto mutações e variações dos diferentes níveis de expressão gênica associados ao estresse ácido (BANG et al., 2002; YANG et al., 2014).

Em muitos desses sorovares, as chamadas proteínas de choque ácido modulam as características da superfície da célula bacteriana, como hidrofobicidade e atuação das porinas de membrana externa, controle de pH citoplasmático e reparo macromolecular (FOSTER, 1991; FOSTER, 1993; BEARSON; WILSON; FOSTER, 1998). Quando em pH ácido, *Salmonella* Typhimurium promove principalmente a indução do fator sigma alternativo (rpoS) na fase logarítmica, enquanto a porina OmpR tem maior envolvimento na fase estacionária (BEARSON; WILSON; FOSTER, 1998). Muitas porinas possuem domínios extra e intracitoplasmáticos que atuam como sensores e sinalizadores em situações de estresse ácido, sendo importantes até mesmo para a virulência bacteriana (CHOI; GROISMAN, 2016).

Entretanto, Ren et al. (2015), demonstraram alguns mecanismos distintos envolvidos na sobrevivência de *Salmonella enterica*. Esses autores observaram que as bactérias se adaptam melhor ao ambiente ácido quando realizam a acetilação reversível de suas proteínas. Esse processo auxilia no metabolismo bacteriano, uma vez que em pH ácido, a desacetilação proteica resulta na produção de prótons e ânions que são exportados para o meio extracelular e, conseqüentemente, impedem que o pH diminua mais ainda (MCBRIAN et al., 2013).

## Estresse osmótico

O estresse osmótico está intimamente correlacionado ao estresse de dessecação, uma vez que tal estresse geralmente precede o estresse de dessecação, enquanto os arredores perdem água e os solutos ficam concentrados (D'AOUST, 1997). A dessecação danifica a membrana externa bacteriana e aumenta o nível intracelular de cloreto de sódio, danificando proteínas intra e extracelulares, que conseqüentemente, afeta a cinética de enzimas e reações bioquímicas (SLEATOR; HILL, 2002).

A exposição ao estresse osmótico ativa mecanismos para reter ou adquirir água do meio extracelular, baseado na síntese ou aquisição de solutos compatíveis que podem ser concentrados sem interromper os processos celulares (LI et al., 2012). Os principais solutos envolvidos incluem íons inorgânicos e moléculas orgânicas. Em bactérias gram-negativas, já foi demonstrado que o transporte do íon inorgânico K<sup>+</sup> é mediada por simpatizantes de K<sup>+</sup> H<sup>-</sup> (Trk<sup>+</sup>) e por um transportador de K<sup>+</sup> ATPase do tipo P Kdp (ALTENDORF et al., 2009; KRAMER, 2010).

Em contrapartida, dentre as principais moléculas orgânicas envolvidas estão trealose, glicina betaína, ectoína e prolina. Essas moléculas são transportadas por sistemas

especializados, como por exemplo, o transportador ABC, sendo codificados por genes organizados em operons, sendo o ProP, ProU, BetT, BetU os mais envolvidos (CSONKA, 1989; SLEATOR; HILL, 2002; LI et al., 2012). Os operons ProP e ProU são amplamente distribuídos e não possuem especificidade do substrato, diferentemente de BetT e BetU, operon específico da colina e betaína, respectivamente (MURDOCK et al., 2014).

O principal agente causador do estresse osmótico é o cloreto de sódio (NaCl), destacando-se ainda o glicerol e o cloreto de potássio. São agente utilizados na indústria de alimentos com o objetivo de reduzir a atividade de água de uma determinada matriz alimentar, limitando assim o crescimento bacteriano (FINN et al., 2015). Entretanto, o que se observa é a existência de uma alta heterogeneidade das respostas individuais das bactérias, principalmente em *Salmonella enterica*, havendo complexidade no comportamento das populações microbianas (ZHOU et al., 2011; ASPRIDOU; AKRITIDOU; KOUTSOUMANIS, 2018).

Ao avaliarem a resposta transcriptômica de *Salmonella Typhimurium* exposta aos três produtos humectantes citados anteriormente, Finn et al. (2015), observaram que existe diferença na expressão de genes de resposta ao estresse osmótico entre os agentes testados. Bactérias expostas a NaCl e KCl apresentam aumento na expressão de genes relacionados aos sistemas de transporte de solutos osmoprotetores, diferentemente do glicerol, agente não aniônico que inibiu esses mecanismos osmoadaptativos, estimulando positivamente os genes associados aos lipopolissacarídeos e proteínas da membrana celular (FINN et al., 2015).

Quando exposta a diferentes concentrações de cloreto de sódio, *Salmonella Agona* apresentou crescimento, sobrevivência e morte simultânea das células estressadas, desencadeando um comportamento conhecido como fenômeno “*Phoenix*” (ASPRIDOU; AKRITIDOU; KOUTSOUMANIS, 2018). Nesse fenômeno, nota-se que após o estímulo estressante há diminuição da curva de crescimento, seguido por um período em que os números permanecem inalterados e, a partir de então, um crescimento exponencial das bactérias (COLLEE; KNOWLDEN; HOBBS, 1961). Esse fenômeno é explicado pela seleção de uma parte da população, seguida de crescimento das células bacterianas sobreviventes (MELLEFONT; MCMEEKIN; ROSS, 2005).

## Estresse de dessecação ou hídrico

*Salmonella* sp. responde ao estresse por dessecação por vias complexas que envolvem ações fisiológicas imediatas, bem como, respostas genéticas coordenadas. Já foram identificados 61 genes e seis regiões intergênicas necessárias para superar o estresse de dessecação, com enfoque aos genes *atpH*, *atpG* e *corA*. Envolve uma série de processos relacionados à produção e conversão de ATP, transporte e metabolismo de íons inorgânicos, ativação de transportadores ABC (*ATP-Binding Cassette*) e sistemas de dois componentes (MANDAL; KWON, 2017).

Em análise transcriptômica de *Salmonella* Typhimurium submetida a estresse de dessecação, Maserati et al. (2017), observaram que a baixa atividade de água impacta significativamente na regulação gênica. Alguns dos genes identificados estão envolvidos na diminuição de reações enzimáticas, replicação e reparo de DNA. Alguns diminuem a eficiência no processamento pós-transcricional de tRNA, e principalmente, codificam fatores de virulência. Acredita-se que os genes relacionados à virulência auxiliam na produção temporária de estruturas extracelulares com o papel de proteger a célula da dessecação (MASERATI et al., 2017).

A dessecação pode induzir também a tolerância cruzada a vários outros fatores estressantes em *Salmonella* Enteritidis, Newport, Infantis e Typhimurium (GRUZDEV; PINTO; SELA, 2011). Assim, aquelas bactérias expostas ao estresse de dessecação subletal tendem a apresentar maior taxa de sobrevivência quando expostas ao etanol, hipoclorito de sódio, cloreto de didecil-dimetil-amônio, peróxido de hidrogênio, cloreto de sódio, sais biliares, calor seco e até mesmo a irradiação, conforme demonstrado em estudo realizado por Gruzdev; Pinto; Sela (2011).

## Estresse térmico

Para responderem à elevação da temperatura, as células bacterianas possuem termosensores, ou seja, sistemas biológicos que incluem proteínas, lipídios, fluidez de membrana e RNAs responsáveis pela detecção de alterações da temperatura interna celular. Normalmente, são encontrados na região 5'UTR, e envolvem a ativação de fatores de transcrição que aumentam a expressão de genes específicos envolvidos na superprodução de proteínas de choque térmico (HSPs) (HERENDEEN; VANBOGELEN; NEIDHARDT, 1979; LIM; GROSS, 2011).

As HSPs são representadas principalmente por chaperonas e proteases dependentes de ATP, sendo responsáveis por promover a estabilização de proteínas celulares, como ligação das proteínas desdobradas e inibição da agregação irreversível não específica (ROBINSON, 2013; HASLBECK; VIERLING, 2015). Esse processo é coordenado principalmente pelos fatores sigma alternativos rpoH ( $\sigma_{32}$ ) e rpoE ( $\sigma_{24}$ ), responsáveis por respostas citoplasmática e extracitoplasmática, respectivamente (MORIMOTO, 1998; MORITA et al., 1999; MORITA et al., 1999).

Recentemente, Mercer et al. (2017) estudaram a presença do locus de resistência ao calor (LHR) em *Salmonella enterica*, uma ilha genômica de 14 kb responsável por atribuir resistência ao calor em um isolado de *Escherichia coli* (AW1.7). Segundo os autores, a resistência ao calor neste isolado não foi atribuída aos fatores sigma alternativos, e sim à presença desse locus (RUAN et al., 2011). Acredita-se que essa região está presente em enterobactérias, sendo responsável pela produção de proteínas de choque térmico, proteases e proteínas de membrana envolvidas no transporte de solutos compatíveis

(MERCER et al., 2015).

Sirsat et al. (2015) observaram também que em *Salmonella* Typhimurium submetida a estresse térmico, ocorre a indução de um outro fator sigma, o rpoS ( $\sigma38$ ). Este gene está associado à RNA polimerase capaz de controlar a expressão de mais de 50 proteínas envolvidas em outros tipos de injúrias, principalmente ao estresse ácido (LIANOU; KOUTSOUMANIS, 2013). Devido a este fato, espécies de *Salmonella* submetidas a situações de estresse térmico subletal podem apresentar proteção cruzada frente a outros fatores estressantes, como o ácido, ou vice-versa (FONG; WANG, 2016; KANG et al., 2018).

## Estresse oxidativo

Os organismos aeróbicos utilizam oxigênio molecular para a respiração e oxidação de nutrientes para obtenção de energia, produzindo espécies reativas de oxigênio durante esse processo (IMLAY, 2008). Os organismos possuem sistemas finamente regulados para manter níveis baixos de espécies reativas de oxigênio (EROs), ou seja, sua produção e eliminação são bem equilibradas, resultando em um nível dessas moléculas em estado estacionário. Entretanto, o aumento no nível de EROs no estado estacionário, resultado de um desequilíbrio entre os processos de geração e eliminação, são letais aos microrganismos, desencadeando o chamado estresse oxidativo (SIES, 1985; LUSHCHAK, 2014).

O estresse oxidativo bacteriano pode ocorrer tanto de forma endógena, como de forma exógena. A forma endógena relaciona-se a mecanismos de defesa do hospedeiro durante o processo de infecção, de forma que células imunológicas que usam a NADPH oxidase, exploram esse tipo de mecanismo durante a fagocitose. A forma exógena é representada pela utilização de agentes biocidas/desinfetantes, radiação ultravioleta, ionizantes e outros compostos químicos que geram oxigênio intracelular. Com isso, haverá uma maior concentração de oxigênio ativo, excedendo a capacidade de defesa da bactéria (CABISCOL; TAMARIT; ROS, 2000).

## Espécies reativas de oxigênio (EROs)

Muitas vezes, espécies reativas de oxigênio (EROs) são utilizadas como sinônimos para radicais livres. Radicais livres são moléculas ou fragmentos moleculares que possuem elétrons desemparelhados, atuando assim, como mediadores para a transferência de elétrons em reações bioquímicas (HARMAN, 1957). Assim, as EROs podem ser definidas como aqueles radicais livres que possuem elétrons desemparelhados no centro do átomo de oxigênio, sendo usado na maioria das vezes para identificar alguns radicais livres (FINKEL, 1998).



As EROs podem ser divididas em dois grupos, espécies radicalares e não radicalares. Dentre as espécies radicalares derivadas do oxigênio, pode-se citar o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), radical peridroxila ( $HOO\bullet$ ), radical hidroxila ( $OH\bullet$ ), radical alcoxila ( $RO\bullet$ ), radical peroxila ( $ROO\bullet$ ) e ânion carbonato ( $CO_3^{\bullet-}$ ). As espécies não radicalares podem ser representadas pelo peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), ácido hipocloroso ( $HOCl$ ), oxigênio singlete ( $1O_2$ ), hidroperóxidos orgânicos ( $ROOH$ ) e ozônio ( $O_3$ ) (HALLIWELL, 2016).

As EROs podem ser obtidas pela respiração celular, principalmente  $O_2^-$  e  $H_2O_2$ , sintetizados por sistemas enzimáticos de células fagocíticas (NADPH oxidase, mieloperoxidases), como neutrófilos e macrófagos, e exposição à radiação ionizante ou por outros processos de desinfecção (HALLIWELL, 2016; HANCOCK; DESIKAN; NEILL, 2001). Assim, a produção pode ocorrer por meio de reação em cadeia, representado pela captação de elétrons de um composto químico, formando um novo radical livre; ou pelo sistema de transporte de elétrons da respiração celular, em que na maioria das vezes o oxigênio recebe elétrons nas mitocôndrias celulares (HANCOCK; DESIKAN; NEILL, 2001).

Em condições aeróbicas, mais de 90% do oxigênio é reduzido em água pela cadeia de transporte de elétrons, localizada na membrana plasmática em procariontes, utilizando os mecanismos de quatro elétrons sem liberação de EROs (OTT et al., 2007). O restante do oxigênio é reduzido por reações sucessivas de um elétron, com consequente produção de radical aniônico superóxido ( $O_2^-$ ) acompanhado pela redução de um elétron com a incorporação de dois prótons para produção de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (LUSHCHAK, 2014).

O peróxido de hidrogênio não é considerado um radical livre, porém, é uma molécula que, quimicamente, apresenta maior reatividade que o oxigênio molecular, estando assim incluída no grupo de espécies reativas de oxigênio. A molécula de peróxido de hidrogênio que aceita mais um elétron é dividida em radical hidroxil e ânion hidroxil. Desta forma, o radical hidroxila consegue interagir com mais um elétron e um próton, para a formação de água (FISCHER, 1987). Esse processo de decomposição do  $H_2O_2$  tem a ação de íons ferro ou cobre, caracterizando as chamadas reações de Fenton e de Haber-Weiss (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

As diversas EROs são produzidas continuamente pelos microrganismos, e quando em elevadas quantidades, possuem a capacidade de oxidar carboidratos, aldeídos, aminoácidos e alguns compostos heterocíclicos (LIM; GROSS, 2011). Os organismos vivos possuem um sistema antioxidante complexo e multinível que opera para eliminar as EROs ou minimizar seus efeitos negativos, que envolve enzimas como catalase e superóxido dismutase, e algumas proteínas e moléculas como tioredoxina e glutaredoxina e glutatona (IMLAY, 2008). Em bactérias, todo esse processo é regulado geneticamente, basicamente por dois reguladores transcricionais chamados de OxyR e SoxRS, a serem discutidos a seguir (STORZ; IMLAY, 1999).

## Regulação do sistema de defesa

Em bactérias gram-negativas, principalmente *Escherichia coli* e *Salmonella enterica*, os principais sistemas de defesa regulatórios induzidos durante o estresse oxidativo englobam as proteínas transcricionais OxyR e SoxRS. O primeiro responde principalmente ao peróxido de hidrogênio e, o segundo, à compostos redox-ativos (NUNOSHIBA et al., 1992; ZHENG; ASLUND; STORZ, 1998). Além disso, sabe-se que alguns genes regulados pelo sistema fator sigma RNA polimerase (RpoS) podem estar envolvidos na resposta ao estresse oxidativo nesses microrganismos (KOH; ROE, 1996).

Seo et al. (2015) demonstram que um total de 68 genes em 51 unidades de transcrição pertencem aos reguladores OxyR e SoxRS. Eles regulam diretamente os genes associados a uma série de modificações na célula bacteriana. Esses mecanismos estão relacionados principalmente a desintoxicação, proteção e reparo de danos ao DNA e de proteínas, biossíntese de metionina e aminoácidos aromáticos, biossíntese de lipídios A e crescimento de peptidoglicanos na parede celular, bem como, transporte de íons metálicos divalentes (SEO et al., 2015).

### a) OxyR

O OxyR é um sensor e regulador transcricional identificado inicialmente em *Escherichia coli* e *Salmonella Typhimurium*, membro da família de fatores de transcrição bacteriana LysR (STORZ; TARTAGLIA; AMES, 1990). Na presença de peróxido de hidrogênio é ativado por meio da formação de uma ligação dissulfeto entre os resíduos de cisteína C199 e C20879,80 (KULLIK et al., 1995; LEE et al., 2004). Quando oxidado, o OxyR se liga aos seus promotores alvo como um tetrâmero, ocupando quatro sulcos principais adjacentes ao montante dos genes que serão ativados transcricionalmente (TOLEDANO et al., 1994).

A inativação desse regulon oxidado ocorre após a redução da ligação dissulfeto presente entre Cis-199 e Cis-208, indicando que o OxyR funciona como um comutador redox celular reversível (ZHENG; ASLUND; STORZ, 1998). O processo de redução é mais lento que a oxidação, assim como em outros sistemas de proteínas transcricionais, permitindo que o OxyR oxidado permaneça por um maior tempo em um ambiente de redução geral nas células bacterianas (ASLUND et al., 1999; TAO, 1999).

O OxyR oxidado está envolvido na transcrição de aproximadamente 38 genes em 28 unidades transcricionais. Desse total, 26 genes em 17 unidades transcricionais estão relacionados diretamente à expressão de enzimas antioxidantes em resposta ao estresse oxidativo (SEO et al., 2015). Os principais genes ativados incluem *dps* (proteína semelhante à ferritina de ligação ao DNA), *groA* (regulador do crescimento de proteína alfa), *grxA* (glutaredoxina), *katG* (catalase), *ahpCF* (subunidades F e C da alquilidoperóxido-NADPH oxido-redutase), *fur* (regulação da Fe-homeostase) e *oxyS* (*RNA regulador*)

(STORZ; ALTUVIA, 1994; ALTUVIA et al., 1997; ZHENG et al., 2001; ZHENG et al., 2001; KHADEMIAN; IMLAY, 2017).

O OxyR também funciona como um repressor transcricional de alguns genes em condições normais de crescimento, ligando-se em uma região mais extensa dos promotores-alvo do que no estado oxidado, obstruindo a ligação à RNA polimerase (TOLEDANO et al., 1994). Mesmo sendo uma importante proteína reguladora da expressão de catalases e peroxidases em enterobactérias, em algumas outras bactérias Gram-negativas, como *Pseudomonas aeruginosa*, a OxyR pode atuar como repressora na expressão de gene da catalase (HEO et al., 2010).

Em *Salmonella Typhimurium*, estudos demonstraram que a deleção de OxyR diminuiu a capacidade antioxidante da célula pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio, devido a menor expressão de peroxidases com consequente aumento na sensibilidade à H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (BURBANK; ROPER, 2014). Nesse caso as células tornam-se viáveis, mas não cultiváveis (VBNC) quando submetidas ao estresse ambiental, sugerindo que a eliminação desse estado ocorra principalmente através de mecanismos de detecção de *quorum sensing* considerados ainda obscuros (LIAO et al., 2019).

Além de responder ao estresse oxidativo, a proteína reguladora OxyR possui a capacidade de regular positivamente genes envolvidos na virulência de *Salmonella enterica*. Zhang et al. (2018), verificaram que OxyR é capaz de regular positivamente e diretamente o antígeno capsular de polissacarídeo de virulência (Vi) em *Salmonella Typhi*. Essa proteína regula a expressão do locus *viaB*, região que inclui genes responsáveis pela regulação, biossíntese e exportação do polissacarídeo capsular Vi. Esses achados demonstram que OxyR auxilia as células bacterianas a suprimirem a detecção pelo sistema imunológico inato (ZHANG et al., 2018).

#### b) SoxRS

O estresse causado por elevados níveis de superóxido é regulado por um par de genes *soxRS*, que controlam um sistema regulon denominado SoxRS. O SoxR é um regulador membro da família de reguladores de transcrição MerR, um dos primeiros caracterizados no processo de resposta ao estresse oxidativo (STORZ; HENGGE, 2011). A proteína SoxS é membro da família de reguladores transcricionais AraC/XyIS, uma vez que sua expressão é capaz de ativar pelo menos 15 genes (HIDALGO; DING; DEMPLE, 1997).

A proteína SoxR é expressa continuamente, uma vez que se constitui um regulador transcricional homodimérico, que contém grupos de ferro-enxofre [2Fe – 2S] redox-ativos. A oxidação desses grupos regula a atividade transcricional da proteína, uma vez que, enquanto reduzido, não interfere no processo transcricional. Desta maneira, para que as proteínas SoxR sejam ativadas, deve-se ocorrer a oxidação do *cluster* [Fe-S], conforme detectado por estudos de ressonância paramagnética eletrônica de células que superexpressam o SoxR (GAUDU; MOON; WEISS, 1997). Como consequência, haverá

aumento na taxa de transcrição do *soxS*, um gene que codifica um segundo ativador da transcrição, a proteína SoxS (LI; DEMPLE, 1994; JAIR et al., 1996).

Em enterobactérias, principalmente *Escherichia coli* e *Salmonella enterica*, os níveis aumentados de SoxS resultantes da exposição aos compostos redox-ativos, ativam diretamente a transcrição de genes envolvidos na expressão de enzimas contra O<sub>2</sub><sup>-</sup>, reparo de DNA, efluxo de antimicrobianos, geração de NADPH, inibição de síntese de porinas e modificações na camada de lipopolissacarídeos (STORZ; SPIRO, 2011). Dentre eles, os principais são *sodA* (superóxido dismutase de manganês), *fpr* (ferredoxina/flavodoxina-NADPH redutase), *zwf* (glicose 6-fosfato desidrogenase), *fumC* (fumarase C), *nfo* (endonuclease IV), *acnA* (aconitase A) e *micF* (RNA regulador) (HIDALGO; DEMPLE, 1994; ZHENG et al., 1999).

Os genes *soxR* e *soxS* têm sido relacionados a resistência aos antibióticos e biocidas, conforme demonstrado por Ritter et al. (2019), ao avaliarem o genoma de *Salmonella* Enteritidis envolvidas em surtos de origem alimentar. De acordo com os autores, *soxR* juntamente com *marA*, podem ativar a expressão de *acrAB*. Esses genes são importantes na regulação da permeabilidade de membrana, codificando sistemas de efluxo tripartido AcrAB-TolC. Acredita-se que esse sistema seja importante no processo de resistência a diversos antimicrobianos, principalmente os da classe de quinolonas e ao cloro (BALLESTE-DELPIERRE et al., 2014; GRAY; WHOLEY; JAKOB, 2013).

## Danos à bactéria e mecanismos de resposta ao estresse

Quando o estresse oxidativo perdura, importantes macromoléculas são danificadas, o que impacta na fisiologia bacteriana. A oxidação das bases nitrogenadas de DNA, especialmente a guanina, desencadeia modificações mutagênicas, quebras de fita e morte bacteriana se não forem reparadas imediatamente (LLOYD; CARMICHAEL; PHILLIPS, 1998; FANG, 2011). Além disso, a inativação de enzimas metabólicas pode prejudicar a biossíntese de aminoácidos e, induzir a um quadro de auxotrofia para aminoácidos de cadeia ramificada, contendo enxofre e aromáticos (BENOV; FRIDOVICH, 1999).

A peroxidação lipídica e, conseqüentemente, modificações na permeabilidade de membrana constituem uma das primeiras alterações observadas na oxidação (CADENAS, 1989). A peroxidação dos lipídios é constituída por reações em cadeia iniciadas pela perda de um átomo de hidrogênio do carbono de ácidos graxos insaturados. Em seguida, é incorporado oxigênio molecular no carbono central do radical lipídico (L•), originando um radical lipídico peroxila (LOO•) (CADENAS, 1989; DAVIES, 2000).

O radical peroxila consegue intensificar a reação em cadeia da peroxidação, que leva principalmente à formação de hidroperóxido, radicais livres e compostos carbonílicos (CERUTTI, 1985). Também foi determinado que a decomposição de hidroperóxidos, mediados por íons catalíticos de metais de transição, produzem produtos ainda mais reativos.

Dentre eles, radicais alcóxi (RO•), radicais peroxil (ROO•), que podem formar oxigênio singlet, hidroxila (•OH) e alguns aldeídos, incluindo malondialdeído e 4- hidroxinonenal (SLATER, 1984; UEDA et al., 1985).

Ao submeterem *Salmonella Typhimurium* ao estresse oxidativo causado por campo elétrico pulsado, Yun et al. (2016) observaram intensa peroxidação lipídica caracterizada pelo aumento das concentrações de malondialdeído, havendo modificações na morfologia celular. O estresse oxidativo causa ainda mudanças na composição de ácidos graxos na bactéria, com diminuição significativa do ácido octadecenóico e do ácido octadecadienóico, de modo que o conteúdo de ácidos graxos cíclicos não sofre grande impacto (YUN et al., 2016).

Essas diferenças podem ser decorrentes da regulação de dessaturases de ácidos graxos após o estresse, ação direta dos radicais livres ou pelas modificações nas expressões gênicas associadas à biossíntese de ácidos graxos (ALVAREZ-ORDONEZ et al., 2008; LOS; MURATA, 2004). Segundo os autores, ocorre a regulação negativa na expressão dos genes *cfa* e *fabA* e regulação positiva de *fabD*, determinando modificações nos lipídios de membrana devido à diminuição da razão de conteúdo de ácidos graxos insaturados para ácidos graxos saturados (YUN et al., 2016).

A peroxidação lipídica e mudança no perfil lipídico de *Salmonella* sp. impactam significativamente na fluidez e permeabilidade da membrana celular, tornando essa estrutura alvo durante a destruição microbiana. A injúria à membrana confere regulação positiva de genes da citocromo bo-oxidase, como (*cyoA*, *cyoB* e *cyoC*), proteína pertencente a uma das citocromo oxidases respiratórias predominante na membrana que atua na geração da força motriz do próton (YUN et al., 2016; KIM et al., 2005).

Buscando compreender melhor a regulação da permeabilidade da membrana externa, Heijden et al. (2016) ao estudarem o influxo de peróxido de hidrogênio em *Salmonella Typhimurium*, descobriram a atuação dos poros das proteínas de membrana (OMPs). As OMPs mais abundantes são (OmpA, OmpC, OmpD, OmpF), porém, foi observado que somente OmpC e OmpA facilitam a difusão do peróxido de hidrogênio antes e após o ponto de comutação, respectivamente (VAN DER HEIJDEN et al., 2016).

Esses poros podem ser rapidamente abertos ou fechados frente ao estresse oxidativo, com destaque ao OmpA, que difere dos demais por possuir um extenso domínio periplásmico, abrigando duas cisteínas capazes de formarem uma ligação dissulfeto interna (LU et al., 2015). No mecanismo proposto que leva à abertura e fechamento do poro OmpA por seu domínio periplásmico, esse processo permite a elaboração de estratégias eficazes para aumentarem a permeabilidade de antimicrobianos (VAN DER HEIJDEN et al., 2016; MORONES-RAMIREZ et al., 2013).

A oxidação de proteínas é um importante evento envolvido durante o estresse oxidativo em *Salmonella enterica*, caracterizado principalmente por modificações covalentes nas cadeias de aminoácidos. Essas alterações incluem a formação de sulfóxido

de metionina, ácido cisteico, iso-aspartato, clorotirosina e nitro-tirosina (KERN et al., 2005; CHONDROGIANNI et al., 2014). Com o objetivo de reparação das funções proteicas, diversas enzimas possuem a capacidade de reativar estruturas danificadas, como por exemplo, a metionina sulfóxido redutase consegue reparar a metionina oxidada (metionina sulfóxido, Met-SO) em Met (MAHAWAR et al., 2011).

A conversão de aspartato (Asp) em iso-aspartato (iso-Asp) também é uma das modificações mais conhecidas, de forma que a proteína-isoaspartil metiltransferase (PIMT) é a enzima responsável por catalisar o processo de reparação (VIGNESWARA et al., 2006). A PIMT converte iso-Asp em éster iso-aspartilmetílico, realizando a transferência do grupo metil da S-adenosilmetionina. Esses ésteres metílicos são altamente instáveis e hidrolizados rapidamente para formarem succinimidas. Este ciclo se repete várias vezes e a maioria dos iso-Asp é convertida em Asp (DEVRY; CLARKE, 1999).

Recentemente, Kumawat et al. (2016) descreveram a importância dessa proteína na virulência de *Salmonella* Typhimurium em aves domésticas, sendo capaz de responder positivamente ao estresse oxidativo. Segundo os autores, a expressão positiva do gene *pimt*, regulador da atividade da proteína PIMT, aumenta a sobrevivência da bactéria quando exposta ao peróxido de hidrogênio e hipoclorito. Além disso, Pesingi et al. (2017) sugeriram um novo papel dessa proteína, necessária para a sobrevivência de *Salmonella enterica* submetida ao estresse térmico, aumentando ainda mais o seu potencial de virulência.

O impacto do estresse oxidativo no metabolismo de enterobactérias tem sido estudado recentemente (DRAZIC et al., 2015). Em ambientes oxidativos, ocorre o aumento significativo de glicose-6-fosfato-1-desidrogenase, codificada pelo gene *zwf*, de forma que o fluxo metabólico pode ser redirecionado para a via das pentoses fosfato. Conseqüentemente, haverá o aumento das concentrações da coenzima NADPH, importante para o regeneração das enzimas redox tioredoxina e glutaredoxina (SEO et al., 2015; CHRISTODOULOU et al., 2018).

Além disso, durante a oxidação, algumas enzimas com aglomerados de ferro-enxofre (Fe-S) são sensíveis e se tornam afunacionais após à oxidação, tornando, assim o ciclo dos ácidos tricarbóxicos sensível à ação das espécies reativas de oxigênio (CRAIG; SLAUCH, 2009). A deleção de genes responsáveis pela expressão das enzimas superóxidos dismutases (*sodAB*) em *Salmonella* Typhimurium, promoveu a redução de aconitases, aumento de ânions superóxidos e acúmulo de diversos metabólitos como isocitrato e citrato (NOSTER et al., 2019).

Um estudo de proteômica em *Salmonella enterica* exposta ao peróxido de hidrogênio, demonstrou haver aumento na expressão de mais de 115 proteínas, com enfoque às catalases (KatE, KatG e KatN) e peroxidases (AhpCF, TsaA e Tpx), envolvendo ainda as responsáveis pela reparação de DNA (RecA, RecE e Gyrl) (FU et al., 2017). Além disso, na presença de um agente oxidante, é possível observar uma regulação positiva de genes envolvidos na aquisição e utilização de ferro, sendo que essas proteínas são importantes na formação do grupos ferro-

enxofre e, conseqüentemente na reparação de danos causados pelas EROs (FU et al., 2017; IYER; KOONIN; ARAVIND, 2002).

### **Influência do estresse oxidativo durante a infecção por *Salmonella enterica***

Durante o processo de infecção, *Salmonella enterica* enfrenta diversos obstáculos que interferem diretamente em sua virulência. Importantes espécies reativas de oxigênio (ERO) são geradas pelos neutrófilos e pelas células fagocíticas, dentre eles o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Assim, as bactérias possuem complexos sistemas de detoxificação das EROs, que auxiliam na sua sobrevivência durante a infecção no hospedeiro (HENARD; VAZQUEZ-TORRES, 2011).

O ânion superóxido é incapaz de atravessar as membranas, diferentemente do superóxido de hidrogênio. O  $H_2O_2$  é formado em resposta à ação da superóxido dismutase, sendo transportado para o citosol pelas aquaporinas (SLAUCH, 2011). Entretanto, nas etapas iniciais da maturação do fagossomo, a NADPH oxidase aumenta a concentração de  $O_2^-$  dentro do compartimento (KAMEN et al., 2008). Devido ao ambiente ácido no fagossomo, parte do superóxido é protonado ao radical per-hidroxil, tornando-se assim, permeável à membrana (KORSHUNOV; IMLAY, 2002).

Como citado anteriormente, a oxidação dos grupos de ferro-enxofre (Fe-S) promove a liberação de elevadas quantidades de ferro, sendo utilizado nas reações de Fenton-Haber-Weiss com  $O_2^-$  e  $H_2O_2$ , aos radicais hidroxila, uma das moléculas de maior potencial oxidativo dentre as EROs (CRAIG; SLAUCH, 2009). No citosol, as EROs são degradadas em hidrogênio, água oxigenada e oxigênio molecular pelas catalases e peroxidases. De fato, esse processo é regulado primariamente pelas proteínas transcricionais e genes discutidos anteriormente, porém, tem sido observada a influência desse processo na modulação da virulência de *Salmonella* sp. (CHRISTMAN; STORZ; AMES, 1989; CABEZAS et al., 2018).

Por ser uma bactéria intracelular, *Salmonella enterica* apresenta uma dinâmica redox intrabacteriana para sobreviver em macrófagos, conforme elucidado por Van Der Heijden et al. (2015). Segundo esses autores, o sistema bacteriano de secreção SPI-2 tipo III é necessário para estratégias de evasão de EROs, de forma que esse processo depende de um vacúolo intacto contendo o microrganismo. Além disso, aquelas que conseguem evadir a formação dos vacúolos aumentam o estresse redox em macrófagos humanos e murinos (VAN DER HEIJDEN et al., 2015).

Durante o processo inflamatório, *Salmonella* Typhimurium sofre um ciclo de ácido tricarbóxico (TCA) incompleto no intestino, fato este correlacionado pela produção de compostos oxidados por infiltração de neutrófilos (WINTER et al., 2010). Spiga et al. (2017) relataram que receptores de elétrons derivados do processo inflamatório induzem um ciclo TCA oxidativo. Assim, *Salmonella* utiliza como fontes de carbono os ácidos dicarbóxicos fermentáveis, principalmente o succinato, para alimentar diretamente o ciclo TCA durante

estresse oxidativo, permitindo assim sua sobrevivência nas células animais (SPIGA et al., 2017).

Recentemente, Cabezas et al. (2018) apontaram a importância de outro fator de transcrição, além dos já descritos. O fator SlyA atua na regulação da expressão de vários genes envolvidos na virulência (*sopD*, *sopE*, *hilA*) e metabolismo central (*kgtP*, *fruK*, *glpA*) de *Salmonella* Typhimurium submetida ao estresse oxidativo por peróxido de hidrogênio e hipoclorito de sódio. Segundo os autores, a maior expressão de SlyA ocorre em resposta ao aumento das concentrações de espécies reativas de oxigênio, mantendo-se normal em condições basais. Além disso, sugere-se ainda que esses mecanismos envolvidos podem modular o curso da infecção por *Salmonella* Typhimurium (CABEZAS et al., 2018).

Durante o estresse oxidativo, *Salmonella* Typhimurium tem ainda a capacidade de regular positivamente os genes *sitABCD* e *mntH*, importantes sistemas envolvidos no transporte de manganês (KROGER et al., 2013). Esse tipo de resposta é necessário para aumentar a importação dessa molécula para auxiliar a atividade de SodA, causando conseqüentemente, a degradação de ânion superóxido. Desse modo, a aquisição de manganês permite que *Salmonella* Typhimurium supere as defesas antimicrobianas do hospedeiro, auxiliando seu crescimento no intestino (DIAZ-OCHOA et al., 2016).

## Estresse oxidativo subletal

Quando expostas a injúrias que não causem a morte, as bactérias respondem ao estresse com variações transitórias na expressão gênica por meio de diversos regulons e modificações de membrana celular, com modificação na proporção de ácidos graxos saturados e insaturados (STORZ; HENGGE, 2011; YUN et al., 2016). Com isso, esses microrganismos possuirão maiores taxas de sobrevivência por serem mais tolerantes ao fator estressante quando em dose/intensidade subletal, podendo desenvolver ainda, proteção cruzada a outros tipos de estresse não relacionados (RODRÍGUEZ-ROJAS et al., 2019; MELO et al., 2017).

Esses fatos foram demonstrados em estudos realizados por Obe et al. (2018) e Uddin; Jeon; Ahn (2019), *Salmonella* Heidelberg foi capaz de se adaptar a condições subletais de estresse oxidativo, além de desenvolver uma variante mais virulenta, com aumento significativo na capacidade de formação de biofilmes e redução na susceptibilidade a antibióticos, como gentamicina, estreptomicina e amoxicilina com ácido clavulânico. Em um cenário inverso, o estresse causado por baixas doses de antibióticos foi capaz de induzir proteção cruzada contra tensões ácidas, osmóticas e térmicas em *Salmonella* Typhimurium (UDDIN; JEON; AHN, 2019).

Sanz-Puiga et al. (2019) ao avaliarem o comportamento de *Salmonella* Typhimurium tratadas com doses subletais consecutivas usando campos de alta pressão hidrostática e campos elétricos pulsados, observaram que mesmo as bactérias desenvolvendo maior



resistência a essas tecnologias não-térmicas, não houve implicações na sua virulência. Assim, ainda é necessário verificar se a resistência observada nesses estudos é temporal ou transitória, levando ainda em consideração o surgimento esporádico e a seleção de mutantes espontâneos com resistência permanente (SANZ-PUIGA et al., 2019; GAYAN et al., 2016).

Quanto a formação de biofilmes, Dhakal et al. (2019) demonstraram em seu estudo que alguns sorovares de *Salmonella enterica*, principalmente Heidelberg, Typhimurium e Enteritidis, podem produzir biofilmes mais resistentes quando expostas a doses subletais de cloro. Esse comportamento pode ser atribuído a boa capacidade destes sorovares em reagir ao estresse oxidativo subletal, havendo a regulação positiva dos genes de biofilme *bssS* e *ycfR* (WANG et al., 2010).

Além disso, com o aumento gradativo da concentração de cloro ocorre aumento do período de latência (fase lag) em quatro a seis horas. O aumento desse período pode resultar em uma regulação negativa dos genes envolvidos no controle do metabolismo bacteriano, na atividade ribossômica, proteica, comportamento osmótico e de proteínas de membrana reguladoras do pH (WANG et al., 2010). Assim, poderá permitir uma maior sobrevivência dos microrganismos no meio após a remoção do fator estressante (LI et al., 2016).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estresse oxidativo promove modificações significativas na estrutura e fisiologia de *Salmonella enterica*, causado principalmente pelo peróxido de hidrogênio e ânion superóxido. Entretanto, os sistemas regulatórios OxyR e SoxRS são importantes para a regulação de diversos genes envolvidos na sobrevivência endógena e exógena desta bactéria, possibilitando ainda, proteção cruzada a outros tipos de estresse e, conseqüentemente, aumento da sua capacidade de sobrevivência.

De fato, mesmo sendo intensamente estudada nas décadas de 1980 e 1990, estudos de proteômica, genômica e metabolômica tornaram-se importantes ferramentas destinadas à avaliação do comportamento de *Salmonella* frente à injúria oxidativa. Esses estudos têm sido necessários para determinar a ativação de novos genes envolvidos na resposta adaptativa ao estresse, mas também a fatores de virulência presentes durante a infecção bacteriana no hospedeiro. Assim, o conjunto dessas informações é necessário para elaboração de novos produtos antimicrobianos, bem como, melhor compreensão da virulência e patogênese de *Salmonella enterica*.

## REFERÊNCIAS

ALTENDORF, K.; et al. **Osmotic Stress**. EcoSal Plus., v. 3, n. 2, p. 1-42, 2009.

ALTUVIA, S.; et al. **A small, stable RNA induced by oxidative stress: role as a pleiotropic regulator and antimutator**. Cell., v. 90, n. 1, p. 43-53, 1997.

ALVAREZ-ORDONEZ, A.; et al. **Modifications in membrane fatty acid composition of *Salmonella typhimurium* in response to growth conditions and their effect on heat resistance**. Int J Food Microbiol., v. 123, n. 3, p. 212-219, 2008.

ANDERSON, T. C.; et al. **Multistate outbreak of human *Salmonella* Typhimurium infections linked to live poultry from agricultural feed stores and mail-order hatcheries, United States 2013**. One Health, v. 2, p. 144-149, 2016.

ASLUND, F.; et al. **Regulation of the OxyR transcription factor by hydrogen peroxide and the cellular thiol disulfide status**. Proc Natl Acad Sci USA., v. 96, n. 11, p. 6161-6165, 1999.

ASPRIDOU, Z.; AKRITIDOU, T.; KOUTSOUMANIS, K. P. **Simultaneous growth, survival and death: The trimodal behavior of *Salmonella* cells under osmotic stress giving rise to “Phoenix phenomenon”**. Int J Food Microbiol., v. 285, p. 103-109, 2018.

BAIK, H. S.; et al. **The acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* provides protection against organic acids**. Microbiology, v. 142, n. 11, p. 3195-3200, 1996.

BALLESTE-DELPIERRE, C.; et al. **Molecular study of quinolone resistance mechanisms and clonal relationship of *Salmonella enterica* clinical isolates**. Int J Antimicrob Agents, v. 43, n. 2, p. 121-125, 2014.

BANG, I. S.; et al. **Autoinduction of the ompR response regulator by acid shock and control of the *Salmonella enterica* acid tolerance response**. Mol Microbiol., v. 44, n. 5, p. 1235-1250, 2002.

BEARSON, B. L.; WILSON, L.; FOSTER, J. W. **A low pH-inducible, PhoPQ-dependent acid tolerance response protects *Salmonella typhimurium* against inorganic acid stress**. J Bacteriol., v. 180, n. 9, p. 2409-2417, 1998.

BENOV, L.; FRIDOVICH, I. **Why superoxide imposes an aromatic amino acid auxotrophy on *Escherichia coli*. The transketolase connection**. J Biol Chem., v. 274, n. 7, p. 4202-4206, 1999.

BORGES, K. A.; et al. **Phenotypic and Molecular Characterization of *Salmonella* Enteritidis SE86 Isolated from Poultry and Salmonellosis Outbreaks**. Foodborne Pathog Dis., v. 14, n. 12, p. 742-754, 2017.

BURBANK, L.; ROPER, M. C. **OxyR and SoxR modulate the inducible oxidative stress response and are implicated during different stages of infection for the bacterial phytopathogen *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii***. Mol Plant Microbe Interact., v. 27, n. 5, p. 479-490, 2014.

CABEZAS, C. E.; et al. **The transcription factor SlyA from *Salmonella* Typhimurium regulates genes in response to hydrogen peroxide and sodium hypochlorite**. Res Microbiol., v. 169, n. 6, p. 263-278, 2018.

- CABISCOL, E.; TAMARIT, J.; ROS, J. **Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species.** *Int Microbiol.*, v. 3, n. 1, p. 3-8, 2000.
- CADENAS, E. **Biochemistry of oxygen toxicity.** *Annu Rev Biochem.*, v. 58, p. 79-110, 1989.
- CERUTTI, P. A. **Prooxidant states and tumor promotion.** *Science*, v. 227, n. 4685, p. 375-381, 1985.
- CHILLER, T. **Salmonella/foodborne outbreaks in USA.** *Pathology*, v. 51, p. 59-60, 2019.
- CHOI, H.; et al. **Structural basis of the redox switch in the OxyR transcription factor.** *Cell.*, v. 105, n. 1, p. 103-113, 2001.
- CHOI, J.; GROISMAN, E. A. **Acidic pH sensing in the bacterial cytoplasm is required for Salmonella virulence.** *Mol Microbiol.*, v. 101, n. 6, p. 1024-1038, 2016.
- CHONDROGIANNI, N.; et al. **Protein damage, repair and proteolysis.** *Mol Aspects Med.*, v. 35, p. 1-71, 2014.
- CHRISTMAN, M. F.; STORZ, G.; AMES, B. N. **OxyR, a positive regulator of hydrogen peroxide-inducible genes in Escherichia coli and Salmonella typhimurium, is homologous to a family of bacterial regulatory proteins.** *Proc Natl Acad Sci U S A.*, v. 86, n. 10, p. 3484-3488, 1989.
- CHRISTODOULOU, D.; et al. **Reserve Flux Capacity in the Pentose Phosphate Pathway Enables Escherichia coli's Rapid Response to Oxidative Stress.** *Cell Syst*, v. 6, n. 5, p. 569-578, 2018.
- COLLEE, J. G.; KNOWLDEN, J.; HOBBS, B. **Studies on the growth, sporulation and carriage of Clostridium welchii with special reference to food poisoning strains.** *J Appl Bacteriol.*, v. 24, p. 326-339, 1961.
- CRAIG, M.; SLAUCH, J. M. **Phagocytic superoxide specifically damages an extracytoplasmic target to inhibit or kill Salmonella.** *PLoS One*, v. 4, n. 3, p. 1-9, 2009.
- CRUMP, J. A.; et al. **Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive Salmonella Infections.** *Clin Microbiol Rev.*, v. 28, n. 4, p. 901-937, 2015.
- CSONKA, L. N. **Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress.** *Microbiol Rev.*, v. 53, n. 1, p. 121-47, 1989.
- D'AOUST, J. *Salmonella* species. In: DOYLE, M.; BEUCHAT, L.; MONTVILLE, T. (ed.). **Food microbiology: fundamentals and frontiers.** 1. ed., Washington, United States: ASM Press, 1997. p. 135-137.
- DAVIES, K. J. **Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems.** *IUBMB Life*, v. 50, n. 4-5, p. 279-289, 2000.
- DEVRY, C. G.; CLARKE, S. **Polymorphic forms of the protein L-isoaspartate (D-aspartate) O-methyltransferase involved in the repair of age-damaged proteins.** *J Hum Genet.*, v. 44, n. 5, p. 275-288, 1999.

- DHAKAL, J.; et al. **Effect of Chlorine-Induced Sublethal Oxidative Stress on the Biofilm-Forming Ability of *Salmonella* at Different Temperatures, Nutrient Conditions, and Substrates.** J Food Prot., v. 82, n. 1, p. 78-92, 2019.
- DIAZ-OCHOA, V. E.; et al. ***Salmonella* Mitigates Oxidative Stress and Thrives in the Inflamed Gut by Evading Calprotectin-Mediated Manganese Sequestration.** Cell Host Microbe, v. 19, n. 6, p. 814-825, 2016.
- DRAZIC, A.; et al. **Metabolic Response of *Escherichia coli* upon Treatment with Hypochlorite at Sub-Lethal Concentrations.** PLoS One, v. 10, n. 5, p. 1-21, 2015.
- EZRATY, B.; et al. **Oxidative stress, protein damage and repair in bacteria.** Nat Rev Microbiol., v. 15, n. 7, p. 385-396, 2017.
- FANG, F. C. **Antimicrobial actions of reactive oxygen species.** MBio, v. 2, n. 5, p. 1-6, 2011.
- FINKEL, T. **Oxygen radicals and signaling.** Curr Opin Cell Biol., v. 10, n. 2, p. 248-253, 1998.
- FINN, S.; et al. **Exposure of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium to Three Humectants Used in the Food Industry Induces Different Osmoadaptation Systems.** Appl Environ Microbiol., v. 81, n. 19, p. 6800-6811, 2015.
- FISCHER, A. B. **Intracellular production of oxygen-derived free radicals.** Proceedings of a Brook Lodge Symposium, v. 27-29, p. 99-104, 1987.
- FONG, K.; WANG, S. **Heat resistance of *Salmonella enterica* is increased by pre-adaptation to peanut oil or sub-lethal heat exposure.** Food Microbiol., v. 58, p. 139-147, 2016.
- FOSTER, J. W. **Low pH adaptation and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*.** Crit Rev Microbiol., v. 21, n. 4, p. 215-237, 1995.
- FOSTER, J. W. ***Salmonella* acid shock proteins are required for the adaptive acid tolerance response.** J Bacteriol., v. 173, n. 21, p. 6896-6902, 1991.
- FOSTER, J. W. **The acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* involves transient synthesis of key acid shock proteins.** J Bacteriol., v. 175, n. 7, p. 1981-1987, 1993.
- FU, J.; et al. ***Salmonella* proteomics under oxidative stress reveals coordinated regulation of antioxidant defense with iron metabolism and bacterial virulence.** J Proteomics, v. 157, p. 52-58, 2017.
- GAMBINO-SHIRLEY, K.; et al. **Flea market finds and global exports: Four multistate outbreaks of human *Salmonella* infections linked to small turtles, United States-2015.** Zoonoses Public Health, v. 65, n. 5, p. 560-568, 2018.
- GAUDU, P.; MOON, N.; WEISS, B. **Regulation of the soxRS oxidative stress regulon. Reversible oxidation of the Fe-S centers of SoxR in vivo.** J Biol Chem., v. 272, n. 8, p. 5082-5086, 1997.
- GAYAN, E.; et al. **Severely Heat Injured Survivors of *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 Display Variable and Heterogeneous Stress Resistance Behavior.** Front Microbiol., v. 7, n. 1845, p. 1-8, 2016.

GIERALTOWSKI, L.; et al. **National Outbreak of Multidrug Resistant Salmonella Heidelberg Infections Linked to a Single Poultry Company.** PLoS One, v. 11, n. 9, p. 1-13, 2016.

GOSLING, R. J.; et al. **Observations on the distribution and persistence of monophasic *Salmonella* Typhimurium on infected pig and cattle farms.** Vet Microbiol., v. 227, p. 90-96, 2018.

GRAY, M. J.; WHOLEY, W. Y.; JAKOB, U. **Bacterial responses to reactive chlorine species.** Annu Rev Microbiol., v. 67, p. 141-160, 2013.

GRIMONT, P.; WEILL, F. **Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars.** 9. ed., Paris, France: Institut Pasteur, 2007. p. 166.

GRUZDEV, N.; PINTO, R.; SELA, S. **Effect of Desiccation on Tolerance of *Salmonella* enterica to Multiple Stresses.** Appl Environ Microbiol., v. 77, n. 5, p. 1667-1673, 2011.

HALLIWELL, B. J. G. **Free radicals in biology and medicine.** 4. ed., New York, USA: Oxford Science Publications, 2016. p. 851.

HANCOCK, J. T.; DESIKAN, R.; NEILL, S. J. **Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways.** Biochem Soc Trans., v. 29, n. 2, p. 345-350, 2001.

HARMAN, D. **Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry.** J Gerontol., v. 2, p. 298-300, 1957.

HARMS, A.; MAISONNEUVE, E.; GERDES, K. **Mechanisms of bacterial persistence during stress and antibiotic exposure.** Science, v. 354, n. 6318, p. 1390-1401, 2016.

HASLBECK, M.; VIERLING, E. **A First Line of Stress Defense: Small Heat Shock Proteins and their function in protein homeostasis.** J Mol Biol., v. 427, n. 7, p. 1537-1548, 2015.

HENARD, C. A.; VAZQUEZ-TORRES, A. **Nitric oxide and salmonella pathogenesis.** Front Microbiol., v. 2, n. 84, p. 1-11, 2011.

HEO, Y. J.; et al. **The major catalase gene (*katA*) of *Pseudomonas aeruginosa* PA14 is under both positive and negative control of the global transactivator OxyR in response to hydrogen peroxide.** J Bacteriol., v. 192, n. 2, p. 381-390, 2010.

HERENDEEN, S. L.; VANBOGELEN, R. A.; NEIDHARDT, F. C. **Levels of major proteins of *Escherichia coli* during growth at different temperatures.** J Bacteriol., v. 139, n. 1, p. 185-194, 1979.

HIDALGO, E.; DEMPPE, B. **An iron-sulfur center essential for transcriptional activation by the redox-sensing SoxR protein.** Embo Jour, v. 13, n. 1, p. 138-146, 1994.

HIDALGO, E.; DING, H.; DEMPPE, B. **Redox signal transduction via iron-sulfur clusters in the SoxR transcription activator.** Trends Biochem Sci., v. 22, n. 6, p. 207-210, 1997.

IMLAY, J. A. **Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide.** Annu Rev Biochem., v. 77, p. 755-776, 2008.

IMLAY, J. A. **The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium.** Nat Rev Microbiol., v. 11, n. 7, p. 443-454, 2013.

IYER, L. M.; KOONIN, E. V.; ARAVIND, L. **Classification and evolutionary history of the single-strand annealing proteins, RecT, Redbeta, ERF and RAD52.** BMC Genomics, v. 3, n. 8, p. 1-11, 2002.

JAIR, K. W.; et al. **Ambidextrous transcriptional activation by SoxS: requirement for the C-terminal domain of the RNA polymerase alpha subunit in a subset of *Escherichia coli* superoxide-inducible genes.** Mol Microbiol., v. 19, n. 2, p. 307-317, 1996.

KAMEN, L. A.; et al. **SHIP-1 increases early oxidative burst and regulates phagosome maturation in macrophages.** J Immunol., v. 180, n. 11, p. 7497-7505, 2008.

KANG, I. B.; et al. **Heat resistance of *Salmonella* Enteritidis under prolonged exposure to acid-salt combined stress and subsequent refrigeration.** Int J Food Microbiol., v. 285, p. 165-172, 2018.

KERN, R.; et al. **Protein isoaspartate methyltransferase is a multicopy suppressor of protein aggregation in *Escherichia coli*.** J Bacteriol., v. 187, n. 4, p. 1377-1383, 2005.

KHADEMIAN, M.; IMLAY, J. A. ***Escherichia coli* cytochrome c peroxidase is a respiratory oxidase that enables the use of hydrogen peroxide as a terminal electron acceptor.** Proc Natl Acad Sci USA., v. 114, n. 33, p. 6922-6931, 2017.

KIM, B. H.; et al. **The formation of cyclopropane fatty acids in *Salmonella* enterica serovar Typhimurium.** Microbiology, v. 151, n. 1, p. 209-218, 2005.

KOBAYASHI, K. **Sensing Mechanisms in the Redox-Regulated, [2Fe-2S] Cluster-Containing, Bacterial Transcriptional Factor SoxR.** Acc Chem Res., v. 50, n. 7, p. 1672-1678, 2017.

KOH, Y. S.; ROE, J. H. **Dual regulation of the paraquat-inducible gene pqi-5 by SoxS and RpoS in *Escherichia coli*.** Mol Microbiol., v. 22, n. 1, p. 53-61, 1996.

KORSHUNOV, S. S.; IMLAY, J. A. **A potential role for periplasmic superoxide dismutase in blocking the penetration of external superoxide into the cytosol of Gram-negative bacteria.** Mol Microbiol., v. 43, n. 1, p. 95-106, 2002.

KRAMER, R. **Bacterial stimulus perception and signal transduction: response to osmotic stress.** Chem Rec., v. 10, n. 4, p. 217-29, 2010.

KROGER, C.; et al. **An infection-relevant transcriptomic compendium for *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium.** Cell Host Microbe, v. 14, n. 6, p. 683-695, 2013.

KULLIK, I.; et al. **Mutational analysis of the redox-sensitive transcriptional regulator OxyR: regions important for oxidation and transcriptional activation.** J Bacteriol., v. 177, n. 5, p. 1275-1284, 1995.

KUMAWAT, M.; et al. **Contribution of protein isoaspartate methyl transferase (PIMT) in the survival of *Salmonella* Typhimurium under oxidative stress and virulence.** Int J Med Microbiol., v. 306, n. 4, p. 222-230, 2016.

LAROCK, D. L.; CHAUDHARY, A.; MILLER, S. I. ***Salmonella* interactions with host processes.** Nat Rev Microbiol., v. 13, n. 4, p. 91-205, 2015.

LEE, C.; et al. **Redox regulation of OxyR requires specific disulfide bond formation involving a rapid kinetic reaction path.** Nat Struct Mol Biol., v. 11, n. 12, p. 1179-1185, 2004.

LEE, I. S.; SLONCZEWSKI, J. L.; FOSTER, J. W. **A low-pH-inducible, stationary-phase acid tolerance response in *Salmonella typhimurium*.** J Bacteriol., v. 176, n. 5, p. 1422-1426, 1994.

LI, B.; et al. **The importance of lag time extension in determining bacterial resistance to antibiotics.** Analyst, v. 141, n. 10, p. 3059-3067, 2016.

LI, H.; et al. **Transcriptomic analysis of *Salmonella* desiccation resistance.** Foodborne Pathog Dis., v. 9, n. 12, p. 1143-1151, 2012.

LI, Z.; DEMPLE, B. **SoxS, an activator of superoxide stress genes in *Escherichia coli*.** Purification and interaction with DNA. J Biol Chem., v. 269, n. 28, p. 18371-18377, 1994.

LIANO, A.; KOUTSOUMANIS, K. P. **Evaluation of the strain variability of *Salmonella enterica* acid and heat resistance.** Food Microbiol., v. 34, n. 2, p. 259-267, 2013.

LIANO, A.; NYCHAS, G.; KOUTSOUMANIS, K. **Variability in the adaptive acid tolerance response phenotype of *Salmonella enterica* strains.** Food Microbiology, v. 62, p. 99-105, 2017.

LIAO, H.; et al. **Quorum-sensing systems trigger catalase expression to reverse the oxyR deletion-mediated VBNC state in *Salmonella Typhimurium*.** Res Microbiol., v. 170, n. 2, p. 65-73, 2019.

LIM, B.; GROSS, C. Cellular Response to Heat Shock and Cold Shock. In: Storz G, Hengge R, editors. **Bacterial Stress Responses.** 2. ed., Washington, United States: ASM Press; 2011. p. 93-114.

LLOYD, D. R.; CARMICHAEL, P. L.; PHILLIPS, D. H. **Comparison of the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and single- and double-strand breaks in DNA mediated by fenton reactions.** Chem Res Toxicol., v. 11, n. 5, p. 420-427, 1998.

LONG, M.; et al. **Disinfectant susceptibility of different *Salmonella* serotypes isolated from chicken and egg production chains.** J Appl Microbiol., v. 121, n. 3, p. 672-681, 2016.

LOS, D. A.; MURATA, N. **Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals.** Biochim Biophys Acta, v. 1666, n. 1-2, p. 142-157, 2004.

LU, S.; et al. **Mapping native disulfide bonds at a proteome scale.** Nat Methods, v. 12, n. 4, p. 329-331, 2015.

LUSHCHAK, V. I. **Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification.** Chem Biol Interact, v. 224, p. 164-175, 2014.

MAHAWAR, M.; et al. **Synergistic roles of *Helicobacter pylori* methionine sulfoxide reductase and GroEL in repairing oxidant-damaged catalase.** J Biol Chem., v. 286, n. 21, p. 19159-19169, 2011.

MANDAL, R. K.; KWON, Y. M. **Global Screening of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Genes for Desiccation Survival.** Front Microbiol., v. 8, n. 1723, p. 1-12, 2017.

- MASERATI, A.; et al. **General response of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium to desiccation: A new role for the virulence factors sopD and sseD in survival.** PLoS One, v. 12, n. 11, p. 1-23, 2017.
- MBA-JONAS, A.; et al. **A Multistate Outbreak of Human *Salmonella* Agona Infections Associated With Consumption of Fresh, Whole Papayas Imported From Mexico-United States.** Clinical Infectious Diseases, v. 66, n. 11, p. 1756-1761, 2018.
- MCBRIAN, M. A.; et al. **Histone acetylation regulates intracellular pH.** Mol Cell., v. 49, n. 2, p. 310-321, 2013.
- MELLEFONT, L. A.; MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T. **Viable count estimates of lag time responses for *Salmonella* typhimurium M48 subjected to abrupt osmotic shifts.** Int J Food Microbiol., v. 105, n. 3, p. 399-410, 2005.
- MELO, A. N. F.; et al. **Changes in thermo-tolerance and survival under simulated gastrointestinal conditions of *Salmonella* Enteritidis PT4 and *Salmonella* Typhimurium PT4 in chicken breast meat after exposure to sequential stresses.** Int J Food Microbiol., v. 251, p. 15-23, 2017.
- MERCER, R. G.; et al. **Genetic determinants of heat resistance in *Escherichia coli*.** Front Microbiol., v. 6, n. 932, p. 1-13, 2015.
- MERCER, R. G.; et al. **The locus of heat resistance (LHR) mediates heat resistance in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae*.** Food Microbiol., v. 64, p. 96-103, 2017.
- MOAT, A.; FOSTER, J.; SPECTOR, M. **Microbial Stress Responses.** In: MOAT, A.; FOSTER, J.; SPECTOR, M. (ed.). **Microbial Physiology.** 4. ed., United States: Wiley-Liss, 2002. p. 582-611.
- MOLINO, M. G.; et al. **Outbreaks of antimicrobial resistant *Salmonella* Choleraesuis in wild boars piglets from central-western Spain.** Transbound Emerg Dis., v. 66, n. 1, p. 225-233, 2019.
- MORIMOTO, R. I. **Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators.** Genes Dev., v. 12, n. 24, p. 3788-3796, 1998.
- MORITA, M. T.; et al. **Translational induction of heat shock transcription factor sigma32: evidence for a built-in RNA thermosensor.** Genes Dev., v. 13, n. 6, p. 655-665, 1999.
- MORITA, M.; et al. **Heat-induced synthesis of sigma32 in *Escherichia coli*: structural and functional dissection of rpoH mRNA secondary structure.** J Bacteriol., v. 181, n. 2, p. 401-410, 1999.
- MORONES-RAMIREZ, J. R.; et al. **Silver enhances antibiotic activity against gram-negative bacteria.** Sci Transl Med., v. 5, n. 190, p. 1-11, 2013.
- MURDOCK, L.; et al. **Analysis of strains lacking known osmolyte accumulation mechanisms reveals contributions of osmolytes and transporters to protection against abiotic stress.** Appl Environ Microbiol., v. 80, n. 17, p. 5366-5378, 2014.
- NOSTER, J.; et al. **Impact of ROS-Induced Damage of TCA Cycle Enzymes on Metabolism and Virulence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.** Front Microbiol., v. 10, p. 1-17, 2019.



NUNOSHIBA, T.; et al. **Two-stage control of an oxidative stress regulon: the *Escherichia coli* SoxR protein triggers redox-inducible expression of the soxS regulatory gene.** J Bacteriol., v. 174, n. 19, p. 6054-6060, 1992.

OBE, T.; et al. **Homologous stress adaptation, antibiotic resistance, and biofilm forming ability of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg ATCC8326 on different food-contact surfaces following exposure to sublethal chlorine concentrations**<sup>1</sup>. Poult Sci., v. 97, n. 3, p. 951-961, 2018.

OTT, M.; et al. **Mitochondria, oxidative stress and cell death.** Apoptosis, v. 12, n. 5, p. 913-922, 2007.

PESINGI, P. K.; et al. **Protein-L-Isoaspartyl Methyltransferase (PIMT) Is Required for Survival of *Salmonella* Typhimurium at 42°C and Contributes to the Virulence in Poultry.** Front Microbiol., v. 8, n. 361, p. 1-9, 2017.

REN, J.; et al. **Acetylation Regulates Survival of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium under Acid Stress.** Appl Environ Microbiol., v. 81, n. 17, p. 5675-5682, 2015.

REQUENA, J. **Stress Response in Microbiology.** 1. ed., Madrid, Spain: Caister Academic Press, 2012. p. 446.

RITTER, A. C.; et al. **Genome analysis reveals insights into high-resistance and virulence of *Salmonella* Enteritidis involved in foodborne outbreaks.** Int J Food Microbiol., v. 306, n. 108269, p. 1-5, 2019.

ROBINSON, R. **Heat Shock Response Regulator Is Pinned to the Membrane.** PLoS Biol., v. 11, n. 12, p. 1, 2013.

RODRÍGUEZ-ROJAS, A.; et al. **Non-lethal oxidative stress boosts bacterial survival and evolvability under lethal exposure.** BioRxiv., p.1-43, 2019.

ROMERO, J. L.; et al. **Resistance to Antibiotics, Biocides, Preservatives and Metals in Bacteria Isolated from Seafoods: Co-Selection of Strains Resistant or Tolerant to Different Classes of Compounds.** Front Microbiol., v. 8, n. 1650, p. 1-16, 2017.

RUAN, L.; et al. **Solute Transport Proteins and the Outer Membrane Protein NmpC Contribute to Heat Resistance of *Escherichia coli* AW1.70.** Appl Environ Microbiol., v. 77, n. 9, p. 2961-2967, 2011.

SANZ-PUIGA, M.; et al. **Resistance changes in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium treated by High Hydrostatic Pressure and Pulsed Electric Fields and assessment of virulence changes by using *Caenorhabditis elegans* as a test organism.** Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 51, p. 51-56, 2019.

SCHNEIDER, C.; OLIVEIRA, A. **Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico.** Rev Bras Med Esporte, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SEO, S. W.; et al. **Genome-wide Reconstruction of OxyR and SoxRS Transcriptional Regulatory Networks under Oxidative Stress in *Escherichia coli* K-12 MG1655.** Cell Rep., v. 12, n. 8, p. 1289-1299, 2015.

SIES, H. Oxidative stress: introductory remarks. In: SIES, H. (ed.). **Oxidative Stress.** London: Academic Press, 1985. p. 1-8.

- SIRSAT, S.; et al. **Transcriptomic Response of *Salmonella* Typhimurium Heat Shock Gene Expression Under Thermal Stress at 48°C.** Journal of Food Research, v. 4, n. 5, p. 51-56, 2015.
- SLATER, T. F. **Free-radical mechanisms in tissue injury.** Biochem J., v. 222, n. 1, p. 1-15, 1984.
- SLAUCH, J. M. **How does the oxidative burst of macrophages kill bacteria? Still an open question.** Mol Microbiol., v. 80, n. 3, p. 580-583, 2011.
- SLEATOR, R. D.; HILL, C. **Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence.** FEMS Microbiol Rev., v. 26, n. 1, p. 49-71, 2002.
- SPIGA, L.; et al. **An Oxidative Central Metabolism Enables *Salmonella* to Utilize Microbiota-Derived Succinate.** Cell Host Microbe, v. 22, n. 3, p. 291-301, 2017.
- STORZ, G.; ALTUVIA, S. **OxyR regulon.** Methods Enzymol., v. 234, p. 217-223, 1994.
- STORZ, G.; HENGGE, R. **Bacterial Stress Responses.** 2. ed., Washington, DC, United States: ASM Press, 2011. p. 506.
- STORZ, G.; IMLAY, J. A. **Oxidative stress.** Curr Opin Microbiol., v. 2, n. 2, p. 188-194, 1999.
- STORZ, G.; SPIRO, S. Sensing and Responding to Reactive Oxygen and Nitrogen Species. In: STORZ, G.; HENGGE, R. (ed.). **Bacterial Stress Responses**, 2. ed., Washington, United States: ASM Press, 2011. p. 157-173.
- STORZ, G.; TARTAGLIA, L. A.; AMES, B. N. **Transcriptional regulator of oxidative stress-inducible genes: direct activation by oxidation.** Science, v. 248, n. 4952, p. 189-194, 1990.
- TAO, K. **In vivo oxidation-reduction kinetics of OxyR, the transcriptional activator for an oxidative stress-inducible regulon in *Escherichia coli*.** FEBS Lett., v. 457, n. 1, p. 90-92, 1999.
- TOLEDANO, M. B.; et al. **Redox-dependent shift of OxyR-DNA contacts along an extended DNA-binding site: a mechanism for differential promoter selection.** Cell., v. 78, n. 5, p. 897-909, 1994.
- UDDIN, M. J.; JEON, G.; AHN, J. **Variability in the Adaptive Response of Antibiotic-Resistant *Salmonella* Typhimurium to Environmental Stresses.** Microb Drug Resist., v. 25, n. 2, p. 182-192, 2019.
- UEDA, K.; et al. **Site-specific DNA damage caused by lipid peroxidation products.** Biochim Biophys Acta., v. 824, n. 4, p. 341-348, 1985.
- VAN DER HEIJDEN, J.; et al. **Direct measurement of oxidative and nitrosative stress dynamics in *Salmonella* inside macrophages.** Proc Natl Acad Sci U S A., v. 112, n. 2, p. 560-565, 2015.
- VAN DER HEIJDEN, J.; et al. ***Salmonella* Rapidly Regulates Membrane Permeability To Survive Oxidative Stress.** MBio, v. 7, n. 4, p. 1-11, 2016.
- VIGNESWARA, V.; et al. **Proteomic identification of novel substrates of a protein isoaspartyl methyltransferase repair enzyme.** J Biol Chem., v. 281, n. 43, p. 32619-32629, 2006.

WANG, S.; et al. **Transcriptomic responses of *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Typhimurium to chlorine-based oxidative stress.** Appl Environ Microbiol., v. 76, p. 5013-5024, 2010.

WINTER, S. E.; et al. **Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for *Salmonella*.** Nature, v. 467, n. 7314, p. 426-429, 2010.

YANG, Y.; et al. **Membrane lipid composition and stress/virulence related gene expression of *Salmonella* Enteritidis cells adapted to lactic acid and trisodium phosphate and their resistance to lethal heat and acid stress.** Int J Food Microbiol., v. 191, p. 24-31, 2014.

YUN, O.; et al. **Effect of Pulsed Electric Field on Membrane Lipids and Oxidative Injury of *Salmonella typhimurium*.** Int J Mol Sci., v. 17, n. 8, p. 1-13, 2016.

ZHANG, Y.; et al. **OxyR positively and directly regulates Vi polysaccharide capsular antigen in *Salmonella enterica* serovar Typhi.** Microb Pathog., v. 124, p. 191-197, 2018.

ZHENG, M.; ASLUND, F.; STORZ, G. **Activation of the OxyR transcription factor by reversible disulfide bond formation.** Science, v. 279, n. 5357, p. 1718-1721, 1998.

ZHENG, M.; et al. **Computation-directed identification of OxyR DNA binding sites in *Escherichia coli*.** J Bacteriol., v. 183, n. 15, p. 4571-4579, 2001.

ZHENG, M.; et al. **DNA microarray-mediated transcriptional profiling of the *Escherichia coli* response to hydrogen peroxide.** J Bacteriol., v. 183, n. 15, p. 4562-4570, 2001.

ZHENG, M.; et al. **OxyR and SoxRS regulation of fur.** J Bacteriol., v. 181, n. 15, p. 4639-4643, 1999.

ZHOU, K.; et al. **Lag phase of *Salmonella enterica* under osmotic stress conditions.** Appl Environ Microbiol., v. 77, n. 5, p. 1758-1762, 2011.