

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS BETA-LACTÂMICOS EM CEPAS DE ESCHERICHIA COLI SELVAGEM, MUTANTE BW535 DE ORIGEM CLÍNICA DESAFIADAS COM MENADIONA

EVALUATION OF RESISTANCE TO BETA-LACTAM ANTIMICROBIALS IN STRAINS OF WILD ESCHERICHIA COLI, BW535 MUTANT OF CLINICAL ORIGIN CHALLENGED WITH MENADIONE

Juliana Graça dos Santos¹

Alexandre Ribeiro Bello²

Ana Cláudia de Paula Ignácio³

Resumo: A família Enterobacteriaceae é um dos principais grupos de agentes infecciosos que apresenta mecanismos de resistência aos antimicrobianos, incluindo os de amplo espectro como os beta-lactâmicos carbapenêmicos. Foi relatado em estudos anteriores a possibilidade do estresse oxidativo, o que significa o desequilíbrio entre o desafio oxidativo e a capacidade de defesa antioxidante do organismo, estar alinhado a resistência

1 Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro

2 Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro

3 Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro



aos antimicrobianos. O organismo possui um complexo sistema de proteção antioxidante, como mecanismo de defesa contra os radicais livres, que são formados constantemente no metabolismo celular normal e em vários eventos patogênicos e, quando em excesso, podem ocasionar a oxidação de moléculas biológicas. Os radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado de átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados de EROs (espécies reativas de oxigênio e ERNs (espécies reativas de nitrogênio) que podem ser originadas a partir de agentes oxidantes exógenos como a menadiona. Esta quinona aumenta nas células os níveis de EROs induzindo a produção de superóxido (SOD) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) o que pode causar morte celular. Entretanto, as bactérias possuem vários mecanismos de defesa

contra EROs que desempenham um importante papel na manutenção de fisiologia. As bactérias respondem ao estresse oxidativo com expressão coordenada por múltiplos genes. Em particular, os regulons SoxRS de *Escherichia coli* que são compostos por genes que são codificados por produtos que provêm resistência ao estresse para superóxido. Neste trabalho avaliaremos em cepas de *E.coli* selvagem AB1157, mutante deficiente em reparo por Excisão de Base (BER) e amostras isoladas de material clínico a possível resistência aos antimicrobianos e a menadiona.

Palavra-chave: enterobactéria, estresse oxidativo, genes

Abstract: The Enterobacteriaceae family is one of the main groups of infectious agents that presents mechanisms of resist-



ce to antimicrobials, including broad-spectrum ones such as carbapenem beta-lactams. Previous studies have reported the possibility that oxidative stress, which means the imbalance between the oxidative challenge and the body's antioxidant defense capacity, is aligned with antimicrobial resistance. The body has a complex system of antioxidant protection, as a defense mechanism against free radicals, which are constantly formed in normal cellular metabolism and in various pathogenic events and, when in excess, can cause the oxidation of biological molecules. Free radicals whose unpaired electron is centered on oxygen or nitrogen atoms are called ROS (reactive oxygen species and ERNs (reactive nitrogen species) that can originate from exogenous oxidizing agents such as menadione. This quinone increases in cells the levels

of ROS inducing the production of superoxide (SOD) and hydrogen peroxide (H₂O₂) which can cause cell death. However, bacteria have several defense mechanisms against ROS that play an important role in maintaining physiology. bacteria respond to oxidative stress with expression coordinated by multiple genes. In particular, the SoxRS regulons of *Escherichia coli* which are composed of genes that are encoded by products that provide resistance to stress to superoxide. In this work we will evaluate in strains of wild *E. coli* AB1157, Base Excision Repair (BER) deficient mutant, and samples isolated from clinical material to possible resistance to antimicrobials and menadione.

Keyword: enterobacteria, oxidative stress, genes



INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana é um crescente e preocupante problema mundial de Saúde Pública, particularmente no ambiente hospitalar e, sobretudo, entre pacientes com fatores de risco para infecção ou colonização por cepas multirresistentes (OLIVEIRA, 2011; FERREIRA, 2018). Segundo Blair e colaboradores (2015) esta resistência pode ser classificada como intrínseca ou natural e adquirida, a primeira citada são certas espécies de bactérias que podem resistir à ação de um determinado antimicrobiano como resultado de uma característica estrutural ou funcional. Também relacionado a esta resistência sabe-se que a aquisição de material genético exógeno anteriormente presente em outros microrganismos que contenham genes de resistência

que podem ser transferidos geneticamente (PAIXÃO; CASTRO, 2016).

De acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020), a resistência aos antimicrobianos é um fenômeno relacionado à formação de cepas de microrganismos que são capazes de se multiplicar na presença de elevada concentração antimicrobiana. A família Enterobacteriaceae é um importante grupo bacteriano e um dos grupos de bactérias mais importantes em infecções humanas (e em outros animais) relacionadas à disseminação de genes de resistência a antimicrobianos (PICOZZI et al., 2012; AGUILAR, 2013). Os constituintes desta família de enterobactérias possuem importantes mecanismos de resistência aos antimicrobianos como aqueles codificados por genes transferidos em eventos como



conjugação, transdução e transformação bacteriana. (FRACAROLLI, 2017). Sabe-se que as bactérias possuem um grande potencial para a aquisição de resistência a antimicrobianos seja por meio de mutações bem como por mecanismos de transferência horizontal de genes. (FLANNAGAN; COSÍO; GRINSTEIN, 2009). Durante o crescimento exponencial e fase estacionária, ocorrendo o estresse oxidativo, este pode ser evitado devido à constante atividade de sistemas antioxidantes de defesa celular organizados como regulons, ou grupos de genes controlados pela mesma transcrição regulador de cada espécie (GARCIA, 2016). A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo celular, produzindo radicais livres de forma natural ou por uma disfunção biológica (OLIVEIRA; SCHOFFEN, 2010). Esses

radicais livres possuem o elétron desemparelhado localizados no centro dos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados ERO (espécies reativas de oxigênio) e ERN (espécie reativa de nitrogênio). A produção de ERO e/ou espécies ERN são parte integrante da homeostase do metabolismo e, portanto, observada em diversos processos fisiológicos (NOGUTI et al., 2013). Porém, a produção excessiva desses oxidantes pode resultar em estresse oxidativo, ou seja, em um desequilíbrio entre processos pró e antioxidantes. A produção de ERO e/ou espécies ERN são parte integrante da homeostase do metabolismo e, portanto, observada em diversos processos fisiológicos (GUARATINI, 2007).

Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbico, o O₂ sofre redução tetravalente aceitando até quatro



elétrons, resultando na formação de 2 H₂O. Durante esse processo, podem ser formados intermediários reativos, como radical ânion superóxido (O₂⁻), radical hidroxila (OH) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Outras espécies reativas formadas durante os processos metabólicos são o oxigênio singlete (1O₂), radical alquila (R), radical alcoxila (RO), peroxila (ROO), óxido nítrico (NO) e o ânion peroxinitrito (ONOO⁻) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Teramoto e colaboradores (2013) ressaltam que ao contrário da molécula eletroneutral de peróxido de hidrogênio, que pode se difundir facilmente através da membrana citoplasmática, o radical superóxido carregado negativamente é incapaz de penetrar na célula.

Portanto, o estresse por superóxido é geralmente induzido por compostos redox ci-

cláveis, como menadiona, que penetram nas células facilmente e induzem uma redução cíclica de um elétron do oxigênio molecular ao radical superóxido pela oxidação de enzimas redox da célula. A ausência de efeito tóxico desses compostos em condições anaeróbicas confirma que seu efeito prejudicial é causado principalmente pelo estresse por superóxido (MINTON; TABOR ;TABOR,1990).

O dano celular resulta basicamente do ataque destas ERO s e/ou ERNs sobre macromoléculas, tais como DNA, proteínas, lipídeos e carboidratos. Existem evidências de que o estresse oxidativo altera os processos de transformação e morte celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2010; ROSSO, 2013).

As EROs são geradas durante o metabolismo celular normal e podem produzir vários



danos oxidativos ao DNA, RNA, proteínas e lipídios; como exemplo as lesões nas bases nitrogenadas ou sítios apurínico/apirimidínico (AP) (LOBO, 2010). Essas lesões podem ocasionar acúmulo de sítios de mutações, caso esses danos não sejam reparados.

As bactérias sofrem respostas globais multigênicas específicas ocorrendo a exposição a estímulos nocivos ou a novos ambientes nutricionais; as respostas são amplamente mediadas por regulons, grupos de genes e operons sob controle comum. Os meios de controle são diversos e às vezes elaborados, eles podem envolver novos ativadores ou repressores transcricionais, clivagem proteolítica ou outras modificações pós-traducionais, loops de feedback positivo ou negativo e cascatas regulatórias. Esses caminhos fornecem novos modelos para a compreensão de regulação

multigênica em todos os organismos (RUIZ et al.,2012).

As bactérias respondem ao estresse oxidativo com a coordenação e expressão de múltiplos genes (PARSONS ; ROCK, 2014). Os genes soxR e soxS são adjacentes e produzem transcrições divergentes sobrepostas (WU ; WEISS, 1992, Manisha et al., 2017).

Em particular, os regulons SoxRS de *Escherichia coli* são compostos por genes que codificam produtos que fornecem resistência ao estresse por superóxido. O regulon SoxRS responde ao acúmulo intracelular de superóxido, desencadeado por agentes redox, como menadiona (HOLTZENDORFFL et al., 2004,;CHIANG ; SCHELLORN,2012). Almeida (2016) ressalva que a menadiona, um composto sintético que é convertido em K2 no intestino,



em presença de íons metálicos, gera radical superóxido. Esta, contém seus compostos de natureza lipossolúveis, o que pode ocasionar alterações na fluidez da membrana bacteriana, tornando-a mais permeável a substâncias, incluindo antibióticos (PISOSCHI; POP, 2015).

A manutenção de uma concentração suficientemente baixa e estável do radical superóxido no expo-crescimento inicial de células de *Escherichia coli*, e também defesa de diferentes sistemas da célula contra o seu efeito prejudicial é fornecida por enzimas codificadas por genes organizados no regulon soxRS. Esse regulon inclui mais de dez genes cujos produtos são responsáveis por diferentes mecanismos de defesa antioxidante da célula. (GRAVINA, 2015).

As proteínas SoxR e SoxS constituem um sistema

sensor-regulador que detecta superóxido e modula a expressão gênica. SoxR é uma proteína dimérica que pertence à família MerR. Cada monômero SoxR contém um grupo [2Fe – 2S] que pode ser oxidado reversivelmente (MICHA et al.2002, RUNGRASSAMEE ; LIU ; POMPOSIELLO, 2008).

Neste projeto avaliaremos a possível resistência à cepa selvagem *E.coli* AB1157, mutante BW535 e cepas isoladas de material clínico aos antimicrobianos beta-lactâmicos e carbapenêmicos simultaneamente com menadiona relacionado a indução de estresse oxidativo e a possível transferência genética envolvendo a resposta ao regulon soxRS.

MATERIAL E MÉTODOS

Casuística



As amostras foram obtidas a partir de material clínico do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) nas unidades de Clínica Médica e cirúrgica, no Centro de Tratamento Intensivo do HUPE-UERJ e do setor de Cepas do laboratório de Bacteriologia e Parasitologia (HUPE-UERJ). Foram analisadas 46 amostras de bactérias Gram-negativas: 26 cepas foram respectivamente da espécie E coli. Foram avaliadas 3 cepas de origem urinária (UPEC 6638,UPEC 2877,UPEC32118) 3 cepas de origem fecal (EAEC H93/3,EAEC I49/3 e EAEC 042) oriundas do Departamento de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ e 20 cepas oriundas de material clínico (swab retal), a partir de amostras do setor de Cepas do Laboratório de Bacteriologia (HUPE-UERJ). Serão usadas as cepas de E. coli selva-

gem AB1157 e a mutante BW535 sob ação de menadiona para avaliação de reparo de DNA e produção de lesões oxidativas.

Desafio com menadiona

As cepas serão semeadas em meio Luria Bertani (LB) líquido a 2 ml mais 50 µl da cultura sem antibiótico. Havendo crescimento, será feito o repique no dia do experimento: 100µl da cultura em 3ml do meio LB. Para os ensaios será utilizado 100mM, 50mM, 25 mM e o controle menadiona a 500mM (o tubo controle somente terá a suspensão bacteriana sem menadiona). Acrescentar nos 3 primeiros tubos 2µl de cloreto de cobre (CuCl₂). Após, incubar por 30 minutos ao abrigo da luz. Posteriormente, diluir para plaqueamento: 10², 10⁴ e 10⁶, será utilizado 5µl do experimento em



495µl de LB: plaqueamento de 50µl. Após o plaqueamento incubar a cultura e realizar a contagem das colônias após 24 hs.

Isolamento das cepas

Para o isolamento das cepas do estudo será utilizado meio seletivo Cystine Lactose Electrolyte Deficient Agar – CLED (Oxoid, Hampshire, GBR). As cepas foram identificadas, morfológicamente pela coloração de Gram e bioquimicamente segundo Winn e colaboradores (2006). Serão utilizadas cepas de espécie *Escherichia coli* de origem fecal e urinária. No experimento proposto as células foram analisadas a partir de um crescimento noturno em meio Luria-Bertani (AUSEBEL ET AL., 1995; SAMBROOK; FRITSH E MANIATIS, 1989). Sendo positivo o crescimento, as

células serão cultivadas em caldo LB em 37 ° C com agitação 150 rpm e/ou em placas LB. Após semeadura em placa LB, as cepas serão suplementadas com várias concentrações de menadiona (0, 10, 20, 30 e 40 µgm e incubado a 37 ° C por 48 h). A menadiona será diluída em DMSO. Assim, um controle DMSO será incluído para determinar qualquer possível interferência nos resultados. Será realizado o teste de susceptibilidade em placas Mueller Hinton (MH).

Determinação do perfil de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos

Difusão em ágar

O teste de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos (TSA) será realizado segundo normas do Clinical and Laboratory Standards Institute



– CLSI (2020). Sobre a superfície inoculada serão depositados os discos contendo os agentes antimicrobianos (Cefar, São Paulo, BRA) e as placas serão incubadas por 18 horas, em estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Após esse tempo, os halos de inibição serão averiguados segundo CLSI (2020). Cepas de *E. coli* ATCC 25922 serão utilizadas para o controle dos discos de agentes antimicrobianos. Serão utilizados os seguintes agentes antimicrobianos (Cefar,

Jardim Anhanguera – São Paulo, Brasil) com suas respectivas concentrações: Cefotaxima (Ctx-30 μg), Ceftazidima (Caz- 30 μg), Ceftriaxone (Cro-30 μg), Cefepima (Cpm-30 μg), Cefalotina (Cfl-30 μg), Imipenem (Ipm-10 μg), Ertapenem (Etp-10 μg), Meropenem (Mep-10 μg), Ampicilina (Amp-10 μg), Amoxicilina (Ami-20 μg), Amoxicilina(Amo-20 μg).

Resultado

Tabela 1: Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) sem menadiona (MD)

CEPAS SEM MENADIONA	AB1157	BW535	042	6638	2877	Resistênci a%
Antimicrobiano	AB1157	BW535	042	6638	2877	%
AMO	S	R	10mm	resistente	resistente	100
AMX	R	R	15mm	10mm	resistente	
AMP	R	R	resistente	resistente	10mm	
CFL	R	R	15mm	Resistente	resistente	100
CAZ	S	S	29mm	20mm	13mm	99,1
CRO	R	R	28mm	16mm	6mm	
CTX	S	R	35mm	22mm	resistente	
CPM	R	S	30mm	21mm	12mm	99,9
ETP	R	R	30mm	30mm	25mm	sensível
IMP	R	R	30mm	27mm	29mm	sensível
MER	R	R	30mm	31mm	25mm	sensível



Tabela 2: porcentagem de colônias com e sem menadiona (MD) (concentração/mM)

	cepa	cepa	cepa
Concentrações com MD	2877	6638	042
12,5mM (MD)	60,67%	15,68%	120,47%
25Mm (MD)	34%	10,19%	107,69%
50Mm (MD)	21,11%	14,11%	100%
100Mm (MD)	5,82%	4,31%	70,3%

Tabela 3: Teste de sensibilidade aos antimicrobianos com experimento desafio menadiona e suas respectivas concentrações (mM)

Antimicrobianos	C 2877	C 042	C 6638	cepas	100mM	50mM	25mM	12,5mM	Sem halo: --- (resistência)
AMO	----	----	---	042	----	----	----	---	
AMX		---	---	2877	----	----	----	9mM	
AMP				6638	----	----	----	---	
CFL	----	9mM	----	042	10mM	10mM	10mM	10mM	
				2877	----	----	----	----	
				6638	----	----	----	----	
CAZ	----	30mM	21mM	042	35mM	37mM	37mM	39mM	
	----	26mM	17mM	2877	----	8mM	----	----	
CRO	----	29mM	20mM	6638	20mM	22mM	----	----	
CTX									
CPM	----	26mM	22mM	042	33mM	34mM	28mM	30mM	
				2877	----	10mM	11mM	15mM	
				6638	30mM	33mM	34mM	32mM	
ETP	26mM	30mM	32mM	042	35mM	33mM	34mM	36mM	
				2877	30mM	28mM	26mM	20mM	
				6638	33mM	30mM	29mM	31mM	
IMP	27mM	25mM	29mM	042	34mM	31mM	32mM	31mM	
				2877	39mM	30mM	28mm	19mM	
				6638	30mM	31mM	29mM	32mM	



MER	28mM	28mM	33mM	042	32mM	34mM	30mM	35mM
				2877	35mM	33mM	29mM	31mM
				6638	35mM	32mM	30mM	32mM

*C- controle

Conclusões

De acordo com a tabela o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) sem menadiona apresentou 100% de resistência aos discos de penicilina, cefalotina (cefalosporina de 1ª geração), as cefalosporinas de 3ª geração (cefotaxima, ceftriaxone e ceftazidima) apresentaram 0,9% de sensibilidade e cefepima, cefalosporina de 4ª geração, apresentou 99,9% de resistência. Todos os discos de carbapenêmicos testados apresentaram sensibilidade.

A tabela 2 ressalta a porcentagem das cepas estudadas com o uso de menadiona e suas respectivas concentrações milimolar (12,5mM, 25mM, 50mM, 100mM). É possível observar nas

cepas testadas com menadiona: quanto maior a concentração da vitamina k3 menor é o número de colônias (porcentagem). A tabela 3 ilustra que a cepa 2877 apresenta sensibilidade apenas aos discos carbapenêmicos, sendo assim 90% dos antimicrobianos testados nesta cepa foram resistentes. Tanto as cepas 042 e 6638 apresentaram sensibilidade aos carbapenêmicos e as cefalosporinas, exceto o disco de cefalotina que foi resistente a cepa 042.

As cepas foram testadas com suas respectivas concentrações (12,5mM, 25mM, 50mM e 100mM). Todas as cepas apresentaram resistência a cefalotina (4ª geração de cefalosporina), apenas a cepa 2877 apresentou resistência em todas as concentrações.



ções em discos com ceftriaxone e cefepima. Esta cepa apresentou resistência aos carbapenêmicos imipenem e ertapenem, ambos resistentes na concentração à 12,5 milimolar. De todos os discos testados no presente trabalho os carbapenêmicos apresentaram cerca de quase 100% de sensibilidade nas cepas testadas e as concentrações avaliadas.

REFERÊNCIAS

AGUILAR MAP 2013. Análise molecular da expressão do fenótipo multi-droga resistente (MDR) em enterobactérias isoladas de amostras clínicas após exposição in vitro ao Imipenem. Tese (doutorado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de análises clínicas e toxicológicas.

ALMEIDA TSD 2016. Identificação, Atividade Antioxidante

e Análise Toxicogenômica de Compostos Fenólicos de Sementes de *Triplaris gardneriana* Wedd. Tese (doutorado)- Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Ceará.

ANAND A., CHEN K., Catoi E., SASTRY AV, OLSON CA., SANDBERG TE., SEIF Y., XU S., SZUBIN, R., YANG L., FEIST, AM., PALSSON, BO 2019. OxyR is a convergent target for mutations acquired during adaptation to oxidative stress-prone metabolic states. *Mol Biol Evol.* 1–8p.

ANDRADE, JACQUELINE C. MORAIS BRAGA, MARIA FLAVIANA B. GUEDES, GLÁUCIA MORGANA M. TINTINO, SAULO R. FREITAS, MARIA A. QUINTANS, LUCINDO J. MENEZES, IRWIN R.A. COUTINHO, HENRIQUE



- D.M 2017. Menadione (vitamin k) enhances the antibiotic activity of drugs by cell membrane permeabilization mechanism. Saudi J Biol Sci. 24 (1): 59–64p.
- AUSUBEL FM, BRENT R, KINGSTON RE, MOORE DD, SEIDMAN JG, SMITH JA, STRUHL K 1995 .Short Protocols in Molecular Biology. Wiley, New York, CP 2 4p.
- BARREIROS ALBS, DAVID JM, DAVID JP 2006. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. Quim Nova. 29(1): 113–123p.
- BLAIR JMA.; WEBBER MA.; BAYLAY AJ.; OGBOLU DO.; PIDDOCK LJ V 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol [Internet]. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro33>, 13,(1):42-51p. Acesso em 21/01/2023
- CAMPÊLO AL 2018. Infecção e colonização por bactérias gram negativas resistentes. Acad Cienc E Tecnol – AC&T,(5):1–15p.
- CARMIGNANI 2013. Do we really know the prevalence of multi drug resistant Escherichia coli in the territorial and nosocomial population? Urology Annals. 5(1):25–9 p.
- CARVALHO G DE 2007. Estudo da resposta antioxidativa de linhagens bacterianas na presença do herbicida Acetochlor. Dissertação-(mestrado) escola superior de agricultura Luiz de Queiroz , 1-70p.
- CHIANG SM.; SCHELLHORN HE 2012. Regulators of oxidative stress response genes in Esche-



richia coli and their functional conservation in bacteria. Arch Biochem Biophys. 525 (2):161–169p.

CLSI 2019. Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories. 29ed. CLSI guideline M100-S29. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Institute.

COSTA ALPD.; JÚNIOR ACSS 2017. Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. Estação Científica (Unifap), 2(7):45-57p.

EL-BENNA, J.; DANG P.M.; GOUGEROT-POCIDALO, M.A 2008. Priming of the neutrophil NADPH oxidase activation: role

of p47phox phosphorylation and NOX2 mobilization to the plasma membrane. Semin Immunopathol,30(3):279-89p.

FERREIRA DS 2018. Infecção hospitalar em um hospital de referência de Roraima: principais patógenos e resistência aos antibiótico.

FLANNAGAN, R.S.; COSÍO, G.; GRINSTEIN, S 2009. Antimicrobial mechanisms of phagocytes and bacterial evasion strategies. Nat Rev Microbiol.7(5):355-66p.

FRACAROLLI IFL.; OLIVEIRA SAMMD 2017. Bacterial colonization and antimicrobial resistance in healthcare workers: An integrative review. ACTA Paulista de Enfermagem. 30(6): 651–657p.



GARCIA K.C 2016. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana da polpa do fruto de *Eugenia brasiliensis* Lam.

GUARATINI T.; MEDEIROS, MHG.; COLEPICOLO, P 2007. Antioxidantes na manutenção do Equilíbrio redox cutâneo: Uso e avaliação de sua eficácia. *Quim Nova*. 30(1): 206–13p.

GRAVINA F 2015. sistema de respostas não específicas de linhagens de *Escherichia coli* k-12 á toxicidade induzida pelos herbicidas paraquat, 2,4- D e atrazina. Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva da Universidade Estadual de Ponta Grossa em associação com a Universidade Estadual do Centro-Oeste.

HALLIWELL B.; GUTTERID-

GE.; J.M.C 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th. . New York: Oxford University Press.

HENAN LIMD.; WANG QI.; RUOBING WANG BM.; YAWEI ZHANG BM.; XIAOJUAN WANG PHD.; HUI WANG M 2017. Global regulator soxr is a negative regulator of efflux pump gene expression and affects antibiotic resistance and fitness in *Acinetobacter baumannii*. *Med (United States)*, 96 24p.

HOLTZENDORFFL J., HUNG D., BRENDE, P., REISENAUER, A., VIOLLIER PH., MCADAMS H H., SHAPIRO L 2004. Oscillating global regulators control the genetic circuit driving bacterial cell cycle. *Science*. 304 983-987p.

IMLAY J.A 2015. Transcription factors that defend bacteria



- against reactive oxygen species. *Annu Rev Microbiol.* 69 93-108p.
- JANION C.;SIKORA A.;NOWO-SIELSKA A.;GRZESIUK E 2003. E.COLI BW535, a triple mutant for the DNA repair genes xth,nth and nfo, chronically induces the SOS Response. *Environmental and Molecular Mutagenesis.* 41 237-242p.
- LUNA F.; PINTO R.; PINTO J.; NASCIMENTO, C.; BARRETO, A.; FELICIANO, G 2021. Avaliação da atividade antioxidante e citotóxico in vitro do óleo essencial de cúrcuma *Zedoaria (christm.) Roscoe.* BRAZILIAN JOURNAL OF DEVELOPMENT. 7(11):108743-108760p
- KUMAR S.; VARELA MF 2013. Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education, Formatex,* 5522-53p.
- LASCANO R.; MUNOZ N.; ROBERT G.; RODRIGUEZ M.; MELCHIORRE M.; TRIPPI V.; QUERO, G 2012. Paraquat: An Oxidative Stress Inducer. *Herbic - Prop Synth Control Weeds,*1993.
- LOBO V.; PATIL A.; PHATAK A.; CHANDRA N 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 4 (8):118-126p.
- LOUREIRO, R.J .; ROQUE, F.; RODRIGUES AT. Herdeiro, M.T, Ramalheira, E 2016. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas :breves notas sobre a sua evolução. *RevPort Sa ú d e P ú b l i c a.* 34(1):77–84p.



- MANISHA W H.; RICHA R.; DEEPALI J 2017. Oxidative stress and antioxidants : an overview OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANTS : AN OVERVIEW. 2 (9):110–119p.
- MARTIN, R G.; ROSNER JL 2002. Genomics of the marA/soxS/rob regulon of Escherichia coli: identification of directly activated promoters by application of molecular genetics and informatics to microarray data. Mol. Microbiol.44(6):1611–1624 p.
- MARTINS T 2013. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. Semin Ciências Biológicas e da Saúde. 34(2): 175-186p.
- MEIRELES M 2008. Uso de antimicrobianos e resistência bacteriana: aspectos socioeconômicos e comportamentais e seu impacto clínico e ecológico. Monografia (especialização em microbiologia) – instituto de ciências biológicas, universidade federal de minas gerais, Belo Horizonte.
- MICHA C.; MANCHADO M.; PUEYO C 2002. SoxRS Down-Regulation of rob Transcription. Journal of bacteriology. 184(17):4733–4738p.
- MILLER, D 1992. “The Generic Strategy Trap”. Journal of Business Strategy.13 (1): 37-41p.
- MINTON KW.; TABOR H.; TABOR CW 1990. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (87):2851-2855p
- NOGUTI J.; ANDERSEN M L.; CIRELLI C.; RIBEIRO DA 2013. Oxidative stress, cancer, and sleep deprivation: is there a logical link in this association?



Sleep Breath., 17(3):905-910p.

19–27p.

OLIVEIRA MCD.; SCHOFFEN JPF 2010. Oxidative stress action in cellular aging. Brazilian Archives of Biology and Technology, 53 (6):1333-1342p.

PAIXÃO LA.; CASTRO FFDS 2016. Colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro -. Univ Ciências da Saúde. 14,1.

OLIVEIRA FBM.; Lima, LM.; Moura M E B.; Nunes B M V T.; Oliveira BM 2011. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana : uma reflexão no tratamento das infecções hospitalares. Rev Interdiscip NOVA-FAPI [Internet]. Disponível em <: http://www.novafapi.com.br/sistemas/revistainterdisciplinar/v4n4/revisao/rev4_v4n4.pdf, 4(4):72-77p. Acesso em 02/10/2021.

PARSONS JB.; ROCK CO 2014. Bacterial Lipids: Metabolism and Membrane Homeostasis. Prog Lipid Res [Internet]. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>. 52 (2):249–76p. Acesso em 15/10/2021.

OROZCO RR.; IVETTE G.; CORTEZ L.; ISLAS E 2016. Propiedades Antibióticas de las poliaminas. E-CUCBA.3(6):-

PICOZZI S.; RICCI C.; GAETA M.; MACCHI A.; DINANG E.; GAIA P.; TEJADA M.; COSTA E.; BOZZINI G.; CASELLATO S.; OLIVEIRA LMCD.; SCHOFFEN JPF 2010. Oxidative stress action in cellular aging. Brazilian Archives of Biology and Techno-



logy, 53 (6): 1333-1342p.

PINA ECS 2012. Estudo da suscetibilidade a antibióticos de enterobactérias isoladas nos hospitais da Universidade de Coimbra : Detecção laboratorial de β -lactamases [internet]. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/10316/22414>. Acesso em: :23/12/2022.

PISOSCHI AM.; POP A 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. Eur. J. Med. Chem. 96 55-74p.

PREVIATO M 2014. Estudo da regulação de genes envolvidos na resposta a estresse oxidativo em *Caulobacter crescentus*. Dissertação (mestrado em microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo .

REZENDE, T. P. T. de. (2012). Avaliação da Ação de Complexos de Ferro na tolerância ao Estresse Oxidativo em *Saccharomyces cerevisiae*. Trabalho de conclusão de graduação- Instituto de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

ROSSO, VV 2013. Bioactivities of Brazilian Fruits and the Antioxidant Potential of Tropical Biomes. Food and Public Health,3(1):37-51p.

RUIZ JA.; ALMEIDA AD.; GODOY MS.; MEZZINA MP.; BIDART GN.; MÉNDEZ BS.; PETTINARI MJ.; NIKE PI 2012. *Escherichia coli* redox mutants as microbial cell factories for the synthesis of reduced biochemicals. Comput Struct Biotechnol J.3 (4).



- RUNGRASSAMEE W.; LIU X.; POMPOSIELLO P 2008J. Activation of glucose transport under oxidative stress in *Escherichia coli*. *Arch Microbiol.* 190, 41–49p.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T1989. *Molecular cloning; a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2.ed v.3.
- SANTOS JGD.; FONSECA BOD.; BELLO AR.; PEREIRA JAA 2018. Avaliação de transferência de marcadores de resistência por conjugação em enterobactérias resistentes aos antimicrobianos e telurito de potássio no ambiente hospitalar. *Rev pensar - Biocusu.* (4):30–41p.
- SILVA MOD.; AQUINO S 2018. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. *Rev Epidemiol e Control Infecção.* 8 (4):472–482p.
- TERAMOTO H.; INUI M.; YUKAWA H 2013. OxyR acts as a transcriptional repressor of hydrogen peroxide-inducible antioxidant genes in *Corynebacterium glutamicum* R. [PubMed: 23621709] *FEBS J.* 280 3298-3312p.
- TKACHENKO A.; NESTEROVA L.; PSHENICHNOV M. 2001. The role of the natural polyamine putrescine in defense against oxidative stress in *Escherichia coli*. *Arch. Microbiol.* 176 155–157p.
- TKACHENKO AG 2004. Mechanisms of Protective Functions of *Escherichia coli* Polyamines Against Toxic Effect of Paraquat, Which Causes Superoxide Stress.



69(2):188–94p.

Wilkins, New York.

VIANA CF 2018. UTILIZAÇÃO E CONSUMO DE ÁGUA EM UM ABATEDOURO FRIGORÍFICO DE BOVINOS E AVIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CARÇA CLAUDIA. Dissertação (mestrado) -Universidade Federal de Minas Gerais.

WU J.; WEISS B 1992. Two-Stage Induction of the soxRS (Superoxide Response) Regulon of Escherichia coli. Disponível em:< <http://jb.asm.org>. 174 (12): 3915–3920p.

ZHAO X.; HUANG S.; LUO H.; WAN X.; GUI Y.; LI J.;WU D 2014. Evaluation of vesicular stomatitis virus mutant as an oncolytic agent against prostate cancer. Int. J. Clin. Exp. Med. 71204–1213p.

WINN, W., ALLEN, S., JANDA, W., KONEMAN, E., PROCOP, G., SCHRECKENBERGER, P. AND WOODS, G 2006. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.6th Edition, Lippincott Williams and

