

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 08/12/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E

BIOTECNOLOGIA APLICADAS À FARMÁCIA

FERNANDA ZANI MANIERI

Estudo do sensor quinase QseC de *Salmonella* Typhimurium com análise transcriptômica e sequenciamento de inserção de transposon (TraDIS)

Araraquara

2021

FERNANDA ZANI MANIERI

Estudo do sensor quinase QseC de *Salmonella Typhimurium* com análise transcriptômica e sequenciamento de inserção de transposon (TraDIS)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como requisito para obtenção do título de Doutora em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Gallina Moreira

Araraquara

2021

M276e Manieri, Fernanda Zani.
Estudo do sensor quinase QseC de *Salmonella Typhimurium* com análise transcriptômica e sequenciamento de inserção de transposon (TraDIS) / Fernanda Zani Manieri. – Araraquara: [S.n.], 2021.
128 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia.

Orientador: Cristiano Gallina Moreira.

1. Sinalização química. 2. Virulência 3. Patogenicidade. 4. Sistema de dois componentes. I. Moreira, Cristiano Gallina, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030081P7
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Estudo do sensor quinase QseC de Salmonella Typhimurium com análise transcriptômica e sequenciamento de inserção de transposon (TraDIS)

AUTORA: FERNANDA ZANI MANIERI

ORIENTADOR: CRISTIANO GALLINA MOREIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA APLICADAS À FARMÁCIA, área: Análises Clínicas pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. CRISTIANO GALLINA MOREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP

Prof. Dr. JOSÉ FREIRE DA SILVA NETO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo - USP

Prof. Dr. RODRIGO TAVANELLI HERNANDES (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Químicas e Biológicas / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Dra. ETHEL BAYER SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Microbiologia / Instituto de Ciências Biomédicas da USP

Araraquara, 08 de dezembro de 2021

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo o incentivo e ajuda para que ele se tornasse possível.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Cristiano Gallina Moreira, pela oportunidade de trabalho, pela paciência, dedicação e tempo concedidos, e com quem aprendi a fazer ciência.

A todos os meus amigos e familiares (Bruno em especial) pela compreensão da importância que este trabalho tem para mim e pelo apoio nos momentos mais difíceis, sou grata por toda a trajetória.

Aos queridos colegas do Laboratório PASIQUIBAC, membros atuais e ex-membros: Débora, Karine, Bruna, Tamara, Isabela, Daniel, Patrick, Luana, Luca, Vânia e Karla. Obrigada pelo trabalho em grupo e por momentos de diversão e descontração.

Aos colegas do Schembri Lab na University of Queensland que me acolheram e muito me ensinaram: Kate, Tügçe, Chitra, Yvette, Zack, Chyden, Monique, Hanna e Georgina.

Ao professor Mark Schembri, que me orientou durante o doutorado sanduíche e prontamente me recebeu em seu grupo de pesquisa.

Aos colegas pós-doutorados do Schembri Lab: Duy, Nhu, Steven e Laura, que me apresentaram às análises bioinformáticas e analisaram os dados do TraDIS.

Aos colegas e parceiros dos Laboratórios de Biologia Molecular e de Micobacteriologia por compartilharem equipamentos, reagentes, conversas e café.

A todos os meus companheiros de casas onde morei, tanto em Araraquara (Danielle, Patrícia, Karyne) como em Brisbane (Hao e Duc). Obrigada pela amizade e por dividirem muitos momentos comigo.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP de Araraquara, por todas as experiências adquiridas, pelo conhecimento propagado e parcerias.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001; e Processo CAPES-PRINT n° 88887.371723/2019-00.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Projeto n° 19/03049-7.

“Nothing in life is to be feared. It is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less”.

Marie Curie

RESUMO

Sinalização química em bactérias patogênicas é um mecanismo empregado para interagir com o hospedeiro e sua respectiva microbiota. Através desta interação patógeno-hospedeiro ocorre a regulação da virulência em bactérias. *Salmonella* Typhimurium é uma bactéria de grande importância clínica muito utilizada no estudo da interação patógeno-hospedeiro. O estudo da sinalização química via QseBC e demais sistemas de dois componentes é essencial na compreensão das vias regulatórias que compõem o processo patogênico. O objetivo do trabalho é investigar o papel do sensor quinase QseC e demais mecanismos moleculares na regulação da virulência de *S. Typhimurium*, e elucidar o conjunto de genes essenciais para a sobrevivência de *Salmonella* ao estresse ácido. Desta forma, análises transcriptômica (RNA-seq) e computacionais foram direcionadas para análise da expressão de genes alvos via qRT-PCR, mutagênese via Lambda Red, ensaio de estresse ácido, sequenciamento via inserção de transposon dirigida (TraDIS), ensaio de motilidade, ensaio de resistência a peptídeos antimicrobianos e análise da eficácia do composto LED209 em camundongos. O RNA-seq evidenciou a alteração na expressão de 1371 genes após a deleção de *qseC* (cerca de 29% do genoma), sendo que 766 genes tiveram sua expressão reduzida e 605 genes tiveram expressão aumentada. Entre os principais resultados estavam processos de regulação de genes de virulência, metabolismo anaeróbico, modificações de membrana, montagem flagelar e secreção das flagelinas, motilidade, resistência a polimixina B, além de evidências de sua interação com o sistema de dois componentes PmrAB. A motilidade *swarming* apresentou redução na cepa mutante, apesar do aumento da secreção de flagelina detectada via Western blot. Também foi detectada a interação da proteína QseB com sua própria região regulatória e do gene *ygiV*. A análise via TraDIS revelou um conjunto de genes essenciais de resistência ao estresse ácido de *Salmonella* distinto dos descritos previamente para *Escherichia coli*, com destaque para genes que participam da resposta ao estímulo de temperatura. Desse modo, é notável a participação do sistema QseBC na regulação do metabolismo e virulência em *S. Typhimurium*, bem como a utilização de análises robustas têm sido promissoras para investigação de novos alvos e terapias anti-virulência.

Palavras-chave: Sinalização química. Virulência. Patogenicidade. Sistema de dois componentes.

ABSTRACT

Chemical signaling in pathogenic bacteria is a mechanism employed for communication with the host and microbiota. The bacterial virulence regulation occurs through host-pathogen interaction. *Salmonella* Typhimurium is a bacterium of clinical relevance, considered a model in host-pathogen interaction studies. The study of chemical signaling via QseBC, and other two-component systems is essential to understand the regulatory pathways that are part of the pathogenic process. The aim of the study was to investigate the role of QseC kinase sensor and molecular mechanisms in *S. Typhimurium* virulence regulation and elucidate the genes that are essential for *Salmonella* acid survival. Thus, transcriptomic (RNA-seq) and computational analysis were done, followed by gene expression via qRT-PCR, Lambda Red mutagenesis, acid stress resistance, transposon-directed insertion site sequencing (TraDIS), motility assays, antimicrobial peptides resistance assays and efficacy analysis of the compound LED209 in mice. The RNA-seq have shown changes in gene expression after the deletion of *qseC*, (around 29% of the genome), in which 766 genes were downregulated and 605 were upregulated. The main processes involved were virulence, anaerobic metabolism, membrane modification, flagella assembly and flagellin secretion, motility, polymyxin B resistance and evidence of interaction with PmrAB system. The swarming motility was reduced in the mutant strain, even with the increase in flagellin secretion detected by Western blot. The QseB interaction with both *ygiV* regulatory region and its own regulatory region was detected. The TraDIS analysis revealed a group of essential genes of *Salmonella* acid resistance that is different from the previous described in *Escherichia coli*, with a highlight in genes involved with temperature stimuli response. Thus, it is notable the QseBC participation in *S. Typhimurium* metabolism and virulence regulation, as well as the use of robust analyses have been promising for the investigation of new targets and antivirulence therapies.

Keywords: Chemical signaling. Virulence. Pathogenicity. Two-component system.

Lista de Figuras

Figura 1. Prevalência de alguns sorovares de <i>S. enterica</i> em humanos e animais.....	19
Figura 2. Os mecanismos utilizados por <i>S. Typhimurium</i> na colonização da mucosa intestinal do hospedeiro.....	29
Figura 3. Organização genômica de <i>visP/ygiV</i> e <i>qseBC</i>	34
Figura 4. Estratégia de nocaute via Lambda Red.....	40
Figura 5. Metodologia usada no ensaio de estresse ácido.....	48
Figura 6. Esquema da obtenção e tratamento do DNA para análise via TraDIS	50
Figura 7. PCR de colônias recuperadas após ensaio de mutagênese comparadas a cepa WT	53
Figura 8. Volcano plot da expressão relativa entre $\Delta qseC$ e WT.....	54
Figura 9. Visualização da região genômica de <i>qseBC</i> das cepas WT e $\Delta qseC$	55
Figura 10. Visualização da região de nocaute do gene <i>qseC</i>	56
Figura 11. Expressão dos genes contidos em SPI-1	57
Figura 12. Expressão dos genes contidos em SPI-2.....	57
Figura 13. Expressão dos genes contidos em SPI-4 e SPI-5	58
Figura 14. Expressão dos genes contidos em SPI-11, SPI-14 e SPI-16.....	59
Figura 15. Análise de enriquecimento (GO <i>terms</i>) da cepa $\Delta qseC$ relativa a WT.....	60
Figura 16. GO <i>terms</i> de operons com redução na expressão	61
Figura 17. GO <i>terms</i> de operons com aumento na expressão	62
Figura 18. tBlastn da região de QseBC e VisP/YgiV em diferentes espécies bacterianas...	64
Figura 19. tBlastn da região de QseBC e VisP/YgiV em <i>S. enterica</i> e <i>S. bongori</i>	65
Figura 20. tBlastn da região de LpxO e PmrAB	66
Figura 21. Modelo estrutural de QseB	67
Figura 22. Sequência consenso genética predita de ligação de QseB e PmrA.....	69
Figura 23. Análise de enriquecimento (GO <i>terms</i>) dos motivos de ligação de QseB	70
Figura 24. qRT-PCR dos alvos <i>qseC</i> , <i>qseB</i> , <i>visP</i> e <i>ygiV</i>	71
Figura 25. qRT-PCR dos alvos <i>pduA</i> , <i>tdcC</i> , <i>cybB</i> e <i>speF</i>	72
Figura 26. qRT-PCR do mutante $\Delta qseC$ relativo a WT	73
Figura 27. qRT-PCR do mutante $\Delta qseB$ relativo a WT	74
Figura 28. Western blot da proteína FliC	75
Figura 29. SDS-PAGE do extrato proteico	76

Figura 30. Western blot da proteína QseB no extrato proteico	76
Figura 31. SDS-PAGE de QseB purificada.....	77
Figura 32. Shift-Western blot de QseB com as regiões promotoras de <i>qseB</i> e <i>ygiV</i>	78
Figura 33. Ensaio tipo <i>swarming</i>	78
Figura 34. Ensaio de resistência a polimixina B em meio LB	79
Figura 35. Ensaio de resistência a polimixina B em meio N-mínimo.....	80
Figura 36. Ensaio de resistência a polimixina B em meio Mueller Hinton.....	81
Figura 37. Ensaio em camundongos Swiss	82
Figura 38. Ensaio de estresse ácido (30 minutos)	83
Figura 39. Ensaio de estresse ácido (45 minutos)	84
Figura 40. MA plot – Resistoma ácido de SL1344	85
Figura 41. Visualização das inserções do transposon em triplicata	88
Figura 42. Visualização das inserções do transposon e dos genes essenciais	89
Figura 43. Análise de enriquecimento (<i>GO terms</i>) dos genes obtidos via TraDIS	90

Lista de Tabelas e Quadros

Quadro 1. Cepas bacterianas e plasmídeos utilizados no estudo	38
Quadro 2. Primers utilizados na mutagênese	39
Quadro 3. Ferramentas usadas para análise do RNAseq.....	41
Quadro 4. Primers utilizados na técnica de qRT-PCR.....	42
Quadro 5. Primers utilizados na técnica de Shift-Western blot	46
Quadro 6. Ferramentas usadas para a análise do TraDIS.....	51
Quadro 7. Motivos de ligação de QseB	67
Quadro 8. Motivos de ligação de PmrA.....	68
Quadro 9. Lista de genes e RI essenciais para a sobrevivência de SL1344 em pH 3.0	86
Quadro 10. Top 10 genes com maior número de inserções do transposon	89

Lista de Abreviaturas e Siglas

AFI.....	<i>Acid Fitness Island</i>
AI.....	<i>Autoinducer</i>
AIP.....	<i>Autoinducer Peptides</i>
AHL.....	<i>Acyl-Homoserine Lactone</i>
BIg.....	<i>Bacterial Immunoglobulin</i>
CAMP.....	<i>Cationic Antimicrobial Peptide</i>
cAMP-CRP.....	<i>cAMP Receptor Protein</i>
DMSO.....	Dimetilsulfóxido
D.O. ₆₀₀	Densidade Óptica a 600 nanômetros
DUF.....	<i>Domain of Unknown Function</i>
EDTA.....	ácido etilenodiamino tetra-acético
EHEC.....	<i>Enterohaemorrhagic Escherichia coli</i>
EMSA.....	<i>Electromobility Shift Assay</i>
EPEC.....	<i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>
GBP.....	<i>Gunilate Binding Protein</i>
GO.....	<i>Gene Ontology</i>
GSP.....	<i>General Secretion Pathway</i>
HCl.....	Ácido clorídrico
HK.....	<i>Histidine Kinase</i>
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-18.....	Interleucina-18
IPTG.....	Isopropil- β -D-1-Tiogalactopiranosídeo
Kb.....	<i>Kilobase</i>
KCl.....	Cloreto de potássio
KDa.....	<i>Kilodalton</i>
K ₂ SO ₄	Sulfato de potássio
KH ₂ PO ₄	Fosfato de potássio monobásico
LB.....	Lysogeny Broth
LEE.....	<i>Locus of Enterocyte Effacement</i>
LogFC.....	<i>Log Fold Change</i>

LPS	Lipopolissacarídeo
mA.....	miliampere
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
NAG	N-acetilglicosamina
NAIP5.....	<i>Apoptosis Inhibitory Protein 5</i>
NAM.....	N-acetilmurâmico
NF-κβ.....	<i>Nuclear Factor κβ</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORF	<i>Open Reading Frame</i>
PAMP	<i>Pathogen-Associated Molecular Pattern</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PCR.....	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PMSF.....	<i>Phenylmethylsulfonyl fluoride</i>
PTS	<i>Phosphotransfer Sugar</i>
qRT-PCR	<i>Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
QS	<i>Quorum Sensing</i>
RI	Região Intergênica
RR.....	Regulador de Resposta
RU.....	<i>Repeat Unit</i>
SCV	<i>Salmonella Containing Vacuole</i>
SDS-PAGE....	Eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio
SPI	<i>Salmonella Pathogenicity Island</i>
Stx.....	<i>Shiga Toxin</i>
TBE.....	Tris Borato EDTA
TLR2.....	<i>Toll-like Receptor 2</i>
TLR4.....	<i>Toll-like Receptor 4</i>
TLR5.....	<i>Toll-like Receptor 5</i>
TMAO	N-óxido de trimetilamina
TNF-α	<i>Tumoral Necrosis Factor α</i>
TraDIS	<i>Transposon Directed Insertion Site Sequencing</i>
T1SS	<i>Type 1 Secretion System</i>

T2SS	<i>Type 2 Secretion System</i>
T3SS	<i>Type 3 Secretion System</i>
T5SS	<i>Type 5 Secretion System</i>
T6SS	<i>Type 6 Secretion System</i>
UDP-NAG	Difosfato de uridina N-acetilglicosamina
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UPEC	<i>Uropathogenic Escherichia coli</i>
WT	<i>Wild Type</i>
YT	<i>Yeast Tryptone</i>
α^{28}	Fator Sigma 28
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Sulfato de amônio

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 Patogênese	20
2.1.1 Ilhas de patogenicidade.....	20
2.1.2 Sistemas de secreção.....	23
2.1.3 Flagelo	23
2.1.4 Lipopolissacarídeo	24
2.1.5 Adesinas.....	25
2.1.6 Resposta ao estresse.....	27
2.2 <i>Salmonella</i> e o hospedeiro	28
2.2.1 Imunidade inata	29
2.2.2 Imunidade adaptativa.....	31
2.2.3 Metabolismo	31
2.3 Sinalização química	32
2.3.1 Sistema QseBC	33
2.3.2 QseC como alvo terapêutico.....	36
3 OBJETIVOS	37
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Construção de mutantes isogênicos	38
4.2 Análise transcriptômica	40
4.2.1 Isolamento do RNA e preparo da biblioteca.....	40
4.2.2 Análise dos dados	41
4.3 Análises computacionais	41
4.3.1 GSEA-Pro	41
4.3.2 Blast.....	42
4.3.3 Swiss-Model	42
4.3.4 MEME Suite	42
4.3.5 WebLogo	42
4.4 Análise de expressão gênica	43
4.5 Western blot da proteína FliC.....	44

4.6	Expressão e purificação de QseB	45
4.7	Shift-Western blot da proteína QseB	45
4.8	Ensaio de motilidade.....	46
4.9	Ensaio de resistência a peptídeos catiônicos antimicrobianos (CAMPs)	47
4.10	Ensaio com LED209 <i>in vivo</i>	47
4.11	Ensaio de estresse ácido.....	48
4.12	Sequenciamento de inserção de transposon (TraDIS)	49
4.12.1	Obtenção da biblioteca de mutantes mini-Tn5	49
4.12.2	Isolamento e preparo da biblioteca de DNA.....	49
4.12.3	Análise dos dados	50
4.13	Análises computacionais	51
4.13.1	JBrowse.....	51
4.13.2	GSEA-Pro	51
4.14	Análise estatística	52
5	RESULTADOS	52
5.1	Obtenção da cepa mutante de <i>qseC</i>	52
5.2	Análise transcriptômica do mutante Δ <i>qseC</i> : processos celulares afetados.....	53
5.2.1	Visão geral	53
5.2.2	Ilhas de patogenicidade.....	56
5.3	Análises computacionais: o sensor QseC, o estudo do regulon e a correlação entre QseB e PmrA	59
5.3.1	Ontologia gênica.....	59
5.3.2	tBlastn.....	63
5.3.3	Análise do regulador QseB.....	66
5.4	Análise da expressão gênica: montagens do flagelo, antígeno O e modificações do lipídio A dependentes de <i>qseC</i>	70
5.5	A secreção de FliC é regulada negativamente por QseC.....	74
5.6	Obtenção da proteína QseB purificada para ensaios de interação	75
5.7	Shift-Western blot: interação de QseB com as regiões regulatórias de <i>qseB</i> e <i>ygiV</i> ..	77
5.8	A motilidade em superfície é afetada na ausência de <i>qseC</i>	78
5.9	O sistema QseBC participa da resistência a CAMPs.....	79
5.10	LED209 administrado profilaticamente reduz a excreção de <i>Salmonella</i> : resultado preliminar.....	82
5.11	Determinação da condição teste do TraDIS: ensaio de estresse ácido	83

5.12 Sequenciamento de inserção de transposon (TraDIS): 28 genes inéditos envolvidos na resposta ácida de <i>S. Typhimurium</i>	84
5.12.1 O resistoma ácido de <i>S. Typhimurium</i>	85
5.12.2 JBrowse.....	88
5.12.3 Ontologia gênica.....	90
6 DISCUSSÃO	91
6.1 A participação de QseC em diversos processos celulares	91
6.2 O regulador de resposta QseB e demais participantes da regulação	96
6.3 Evidências fenotípicas	98
6.4 Genes essenciais de resposta ácida em <i>S. Typhimurium</i>	100
7 CONCLUSÃO	103
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
9 APÊNDICE.....	123

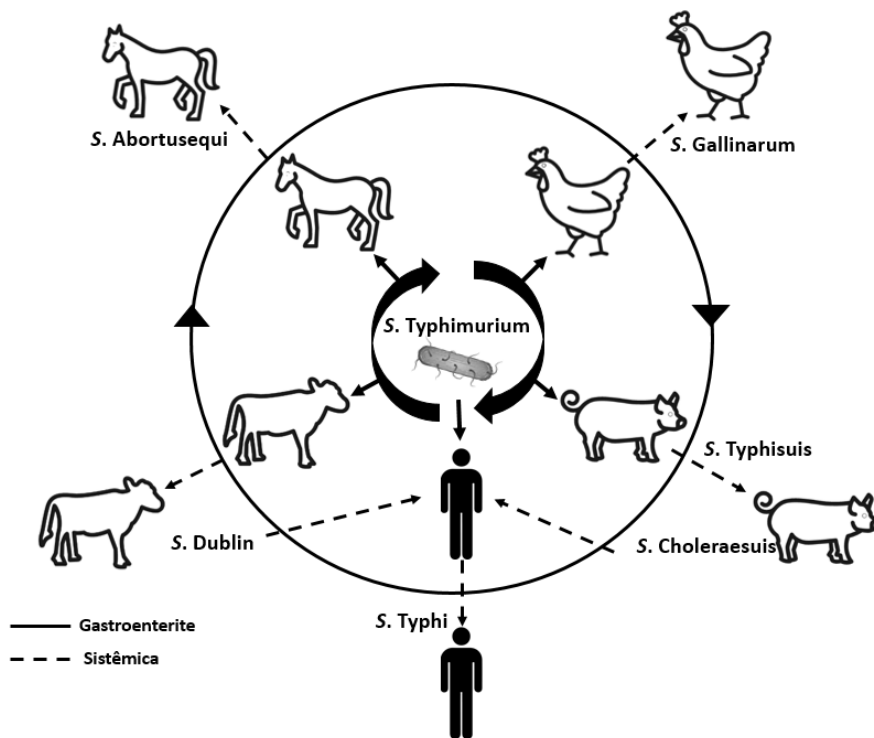
1 INTRODUÇÃO

Doenças diarreioagênicas representaram a oitava maior causa de mortes no mundo no ano de 2016, matando 1,4 milhão de pessoas segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2017b). A salmonelose é uma das doenças diarreioagênicas transmitidas por alimentos mais comuns, sendo um dos quatro maiores fatores globais, com cerca de dez milhões de casos ocorridos mundialmente todos os anos (WHO, 2018). O gênero *Salmonella* é composto por um grupo de bactérias Gram-negativas, móveis, pertencentes à família Enterobacteriaceae e predominantemente patogênicas. Atualmente compreende duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, sendo a primeira isolada com maior frequência em animais de sangue frio, e a segunda comumente associada à gastroenterite em humanos e outros mamíferos (FOOKES; SCHROEDER; LANGRIDGE; BLONDEL *et al.*, 2011). *S. enterica* foi classificada inicialmente em 6 subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*), mas estudos recentes descrevem até 10 subespécies (ALIKHAN; ZHOU; SERGEANT; ACHTMAN, 2018). *S. enterica* subsp. *enterica* compreende mais de 2500 sorovares descritos (classificados por antígenos O, flagelar, capsular e variação de fase de flagelinas) entre tifoideais (*S. Typhi* e *S. Paratyphi A*) e não-tifoideais (*S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*) (ALIKHAN; ZHOU; SERGEANT; ACHTMAN, 2018; LAROCK; CHAUDHARY; MILLER, 2015). *Salmonella* é amplamente distribuída tanto em animais domésticos como em animais de criação, tal como cães, gatos, tartarugas, aves, bovinos, suínos, equinos, entre outros. Sua transmissão para humanos ocorre através destes animais, pelo consumo de água e alimentos contaminados (em especial ovos, leite e carne) ou mesmo via transmissão fecal-oral (WHO, 2018). O tratamento em geral é feito pela reposição de eletrólitos, e os antimicrobianos só são recomendados em casos graves, febre tifoide e grupos de risco como crianças, idosos e imunocomprometidos (WHO, 2018).

Recentemente, diversos estudos acerca do metabolismo de *S. Typhimurium* mostraram que a diversidade de processos catabólicos e anabólicos que ocorrem no hospedeiro está diretamente relacionada à patogênese intestinal. *S. Typhimurium* é um patógeno versátil, pode sobreviver semanas em ambientes secos e meses em água (WHO, 2018). O modo como *S. Typhimurium* se adapta aos seus diversos hospedeiros é crucial para o sucesso da infecção. Grande parcela dos estudos têm sido voltados à salmonelose humana utilizando modelos de camundongos, no entanto outros modelos permitiriam compreender as diferenças metabólicas entre os sorovares e conseqüentemente sua patogênese em cada hospedeiro (HUANG; HERRERO-FRESNO; THØFNER; SKOV *et al.*, 2019).

Diversos sorovares são conhecidos por causarem prejuízos na produção pecuária. *S. Dublin* é adaptada ao trato gastrointestinal de bovinos, podendo causar gastroenterite em bezerros ou mesmo doença sistêmica em bovinos adultos (FENSKE; THACHIL; MCDONOUGH; GLASER *et al.*, 2019). *S. Choleraesuis* é frequentemente isolada de suínos e está associada a doença sistêmica (LUK-IN; CHATSUWAN; PULSRIKARN; BANGTRAKULNONTH *et al.*, 2018), tanto *S. Dublin* como *S. Choleraesuis* podem causar infecção sistêmica severa também em humanos. Outro sorovar, desta vez restrito a suínos, *S. Typhisuis* pode causar gastroenterite assim como *S. Typhimurium* (BERRI; HOGAN; SAADE; ROCHE *et al.*, 2020). *S. Gallinarum* é responsável por causar tifoide aviária em aves de granja, o que levou à produção de uma vacina viva contra o patógeno (WIGLEY, 2017). Já *S. Abortusequi* é responsável por provocar aborto, orquite, sepse e poliartrite em equinos (BUSTOS; MORONI; CAFFER; IVANISSEVICH *et al.*, 2020). Por fim, *S. Typhi* é o sorovar adaptado a humanos capaz de causar a febre tifoide, além de se alojar na vesícula biliar e muitas vezes gerar uma infecção assintomática (LAROCK; CHAUDHARY; MILLER, 2015). A Figura 1 ilustra a versatilidade de *S. Typhimurium* além de alguns sorovares de interesse para saúde humana e animal.

Figura 1. Prevalência de alguns sorovares de *S. enterica* em humanos e animais



Fonte: O autor

Figura 1. Prevalência de alguns sorovares de *S. enterica* em humanos e animais. Diversos sorovares de *S. enterica* são responsáveis por doença sistêmica em animais e humanos. *S. Typhimurium* é capaz de se adaptar e transitar entre estes hospedeiros, causando um quadro de diarreia autolimitante.

S. Typhimurium é considerado um modelo de estudo da interação patógeno-hospedeiro, podendo causar gastroenterite nos hospedeiros supracitados (LAROOCK; CHAUDHARY; MILLER, 2015). Além disso, possui uma grande variedade de mecanismos de patogenicidade e evasão do sistema imune, assim como estratégias para obter vantagem no crescimento e replicação no trato gastrointestinal que serão abordados a seguir.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Patogênese

S. Typhimurium é um patógeno capaz de crescer em diferentes ambientes e hospedeiros. Os mecanismos de virulência associados a salmonelose têm sido estudados desde então, com diversas ilhas de patogenicidade descritas, participação de proteínas efetoras, adesinas, flagelos, proteínas de membrana, lipopolissacarídeo e demais estruturas celulares (HACKER; KAPER, 2002; HARAGA; OHLSON; MILLER, 2008).

2.1.1 Ilhas de patogenicidade

Diversas proteínas estruturais e efetoras importantes para o processo patogênico são codificadas em regiões denominadas “ilhas de patogenicidade” (SPI). Essas regiões foram caracterizadas inicialmente por possuírem um tamanho acima de 30 kilobases (Kb), inseridas em regiões móveis do DNA devido à sua aquisição horizontal (HACKER; KAPER, 2002). Entretanto estudos recentes têm descrito SPI com tamanhos reduzidos como é o caso de SPI-16 (KRÖGER; COLGAN; SRIKUMAR; HÄNDLER *et al.*, 2013). Esses *clusters* podem ser encontrados em cepas patogênicas de *E. coli* e outras enterobactérias, no entanto estão ausentes em *E. coli* comensal K-12 (GOODALL; ROBINSON; JOHNSTON; JABBARI *et al.*, 2018). As SPI são associadas a transposases, integrases e possuem conteúdo GC atípico quando comparadas ao restante do genoma (HACKER; KAPER, 2002). Até o momento foram descritas 16 SPI em *Salmonella enterica*, no entanto nem todas estão presentes em *S. Typhimurium*, algumas sendo exclusivas de sorovares sistêmicos (SRIKUMAR; KRÖGER; HÉBRARD; COLGAN *et al.*, 2015). SPI-1 e SPI-2 foram as primeiras ilhas descritas e são conservadas na maioria dos sorovares por possuírem papel

fundamental na patogênese. SPI-1 está ligada ao processo de invasão celular e SPI-2 é relacionada a sobrevivência e replicação intracelular em células epiteliais, macrófagos e infecção sistêmica em camundongos (CIRILLO; VALDIVIA; MONACK; FALKOW, 1998; DETWEILER; MONACK; BRODSKY; MATHEW *et al.*, 2003).

SPI-1 e SPI-2 codificam diferentes Sistemas de Secreção do Tipo 3 (T3SS, do inglês *Type Three Secretion System*) que são estruturas em forma de agulha molecular, responsáveis pela inserção de proteínas efetoras essenciais durante os dois momentos do processo patogênico (SHEA; HENSEL; GLEESON; HOLDEN, 1996; ZHOU; CHEN; HERNANDEZ; SHEARS *et al.*, 2001). SPI-1 codifica proteínas estruturais do T3SS-1 e efetores como SopE, SopE2 e que juntamente a SopB (codificado em SPI-5), interagem com as Rho GTPases Rac1, Cdc42 e RhoG do hospedeiro. Esta interação nas células do hospedeiro culmina em reorganização dos filamentos de actina e facilita a internalização via macropinocitose (FRIEBEL; ILCHMANN; AEPFELBACHER; EHRBAR *et al.*, 2001). SopB codifica uma enzima inositol-fosfato fosfatase, aumentando os níveis intracelulares de D-mio-inositol-1,4,5,6-tetraquisfosfonato, o que resulta em secreção de cloreto e caracteriza o quadro de diarreia (AZIMI; ZAMIRNASTA; SANI; SOLTAN DALLAL *et al.*, 2020). SipA também é codificado em SPI-1 e auxilia no processo de polimerização no ponto específico de contato da célula bacteriana com a célula hospedeira (HIGASHIDE; DAI; HOMBS; ZHOU, 2002). Após a secreção de efetores e a internalização de *Salmonella*, ocorre a formação do vacúolo (*Salmonella-containing vacuole* – SCV). Uma vez dentro da célula hospedeira, *Salmonella* consegue evitar a ação de células imunológicas no lúmen intestinal, protegendo-se de citocinas secretadas durante a inflamação (HERRERO-FRESNO; OLSEN, 2018).

Ainda neste processo, SPI-2 é ativada na sequência quando *Salmonella* está dentro do SCV. A acidificação do microambiente do SCV promovida pela fusão de lisossomos desencadeia a transcrição de genes que codificam para T3SS-2, formando uma nova estrutura de agulha que injeta novos efetores para neutralização do pH (LAROCK; CHAUDHARY; MILLER, 2015). O sistema CadAB (lisina descarboxilase) também foi descrito como importante na acidificação do citoplasma de *S. Typhimurium* necessária para ativação de SPI-2 (KENNEY, 2019). SPI-2 também codifica para chaperonas de montagem (SscA, SscB), assim como proteínas de manutenção do SCV (SseF, SseG) e proteínas de utilização do tetratoato (TtrA, TtrC, TtrB) (KRÖGER; COLGAN; SRIKUMAR; HÄNDLER *et al.*, 2013). Dessa forma, efetores codificados fora de SPI-2 e outros presentes em SPI-5 são ativados e participam do processo de forma orquestrada. Outro efector de SPI-2

é SifA, importante para a indução da tubulação do SCV e se liga à proteína SKIP de mamíferos, bem como mimetiza as GTPases da família RhoA. Sua atividade é controlada por SseJ, que quando co-expresso antagoniza seu efeito (LAROOCK; BRZOVIC; LEVIN; BLANC *et al.*, 2012; NAWABI; CATRON; HALDAR, 2008). SopD2 é outro efetor ativado dentro do SCV, que interage com Rab7 e torna o ambiente mais favorável à replicação celular (AZIMI; ZAMIRNASTA; SANI; SOLTAN DALLAL *et al.*, 2020).

SPI-3 é outra ilha presente em *S. Typhimurium* e codifica alguns genes importantes para a captação e transporte de magnésio (*mgtCBA*) regulados por PhoPQ, além de outros fatores de virulência como a adesina MisL e o regulador transcricional MarT, sendo necessários para replicação e sobrevivência de *Salmonella* (AMAVISIT; LIGHTFOOT; BROWNING; MARKHAM, 2003). SPI-4 codifica para um Sistema de Secreção do Tipo 1 (T1SS), uma chaperona e uma adesina considerada a maior proteína do proteoma de *Salmonella* (SiiE), com cerca de 600 kDa. Acredita-se que SiiE seja necessária para estabilizar o contato da bactéria com a superfície da célula hospedeira, no momento de invasão celular (WAGNER; BARLAG; GERLACH; DEIWICK *et al.*, 2014). SPI-5 codifica diversos efetores ativados tanto por SPI-1 (SopB, PipC) como por SPI-2 (PipA, PipB) além de um sistema de dois componentes para detecção e resistência ao cobre (CopRS) (SRIKUMAR; KRÖGER; HÉBRARD; COLGAN *et al.*, 2015).

SPI-6 é um *locus* grande contendo 42 genes e codifica para um Sistema de Secreção do Tipo 6 (T6SS), além da fímbria PapD e da invasina PagN (AZIMI; ZAMIRNASTA; SANI; SOLTAN DALLAL *et al.*, 2020). Já SPI-9 é uma região pequena e ainda pouco estudada, codifica para a proteína associada a biofilme BapA e algumas proteínas associadas a T1SS (KRÖGER; COLGAN; SRIKUMAR; HÄNDLER *et al.*, 2013). SPI-11 codifica para algumas proteínas relacionadas ao envelope celular, como EnvE, PliC, CspH e outras que participam da virulência como PagC, PagD e MsgA, também importantes na sobrevivência intracelular (WANG; QAZI; WANG; ZHOU *et al.*, 2020). SPI-12 por sua vez codifica proteínas de modificação do antígeno O denominadas *locus* Oaf, além de proteínas de fagos e um regulador transcricional da família LexA (TOMLJENOVIC-BERUBE; HENRIKSBO; PORWOLLIK; COOPER *et al.*, 2013).

SPI-13 tem 19 Kb e codifica para proteínas importantes na virulência, como foi visto para *S. Enteritidis* onde SPI-13 medeia as vias do ácido D-glicurônico e da tiramina para melhorar a aptidão de *Salmonella* (ELDER; PAUL; BURIN; GUARD *et al.*, 2018). SPI-14 é específica de *S. Typhimurium* e codifica para uma região de 9 Kb que contém genes associados a biofilme (*bssR*) e pode ser ativado em condições de anaerobiose (WANG;

QAZI; WANG; ZHOU *et al.*, 2020). Por fim, SPI-16 codifica para uma pequena região encontrada em *S. Typhimurium* e *S. Typhi*, localizada à jusante do operon de fímbria tipo 1, contendo 4 regiões abertas de leitura (ORF) próximas ao tRNA *argU*. Verificou-se sua participação na persistência da infecção em camundongos e também na soroconversão do antígeno O (WANG; QAZI; WANG; ZHOU *et al.*, 2020).

2.1.2 Sistemas de secreção

O transporte de transmembrana de moléculas em gram-negativos ocorre desde a membrana interna, passando pela membrana externa e muitas vezes atravessando a membrana da célula alvo (GREEN; MECSAS, 2016). Os sistemas de secreção são complexos multiproteicos que possuem algumas proteínas em forma de barril beta, e que formam um canal de transporte essencial para a virulência de bactérias patogênicas (GREEN; MECSAS, 2016). Em Gram-negativos, foram descritos 7 tipos de sistemas de secreção, classificados de acordo com o tipo de função desempenhada por cada um deles. O T3SS é o mais estudado dos sistemas pois a maioria deles tem como alvo a célula do hospedeiro. Em *S. Typhimurium* a montagem e função correta dos T3SS é crucial para invasão celular e replicação, além da presença de um T3SS exclusivo para montagem do flagelo, (F-T3SS) (CHEVANCE; HUGHES, 2008; DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2020). A estrutura em forma de agulha molecular do T3SS necessita de um translocon funcional, para criar um poro na célula hospedeira após o primeiro contato. Sem esse translocon e o *tip* (ponta do injectissoma) não é possível concluir a passagem de efetores pelo tubo (GREEN; MECSAS, 2016). A estrutura é basicamente composta por 3 segmentos: componentes extracelulares, o corpo basal – que atravessa a dupla membrana em gram-negativos – e os componentes citoplasmáticos ancorados à membrana interna (DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2020). A montagem da estrutura ocorre inicialmente pelo anel citoplasmático, o aparato de exportação, seguido pelo anel de membrana interna e os anéis que se ancoram à membrana externa (todos Sec-dependentes). Após esta etapa, o próprio T3SS secreta as demais proteínas e monta sua estrutura final: a agulha, as proteínas da haste interna e por último os efetores (DOS SANTOS; FERRARI; CONTE-JUNIOR, 2020).

2.1.3 Flagelo

O flagelo é uma estrutura essencial para movimentação celular e também é considerado um fator de virulência que contribui para a patogênese de *S. Typhimurium* (CHEVANCE; HUGHES, 2008). O estudo da macroestrutura molecular do flagelo e de sua

montagem deu origem ao estudo dos T3SS, devido à similaridade do corpo basal da estrutura formado por SctD e SctJ (homólogos a FliP e FliR) (KIMBROUGH; MILLER, 2002). Mais de 60 proteínas estão envolvidas na estrutura e funcionamento flagelar, sendo produzidas através da transcrição de genes em uma cascata ordenada, classificada em genes de classes I, II e III, mediados por reguladores transcricionais e fatores sigma. O regulador mestre flagelar *flhDC* está no topo da cascata, sendo parte da classe I de regulação. Na sequência os genes de classe II são ativados através do fator sigma σ^{28} (FliA), e se inicia a transcrição e montagem do corpo basal, contendo os anéis citoplasmático, periplasmático assim como as membranas interna e externa. Após o corpo basal, ocorre a montagem do gancho flagelar e, por fim, os genes classe III são ativados e iniciam a montagem do filamento composto por flagelinas de fase 1 e 2 (FliC e FljB) e também de proteínas associadas ao motor (MotAB) e à quimiotaxia (CheYZ, CheAB, Tar, Tap, Aer) (BAKER; O'TOOLE, 2017).

A transcrição do flagelo está relacionada à busca de novos nutrientes e de novos nichos de colonização dentro do lúmen intestinal. A motilidade se destaca em momentos que antecedem o primeiro contato com o epitélio e da invasão celular, e também é citada como mecanismo essencial na fuga rápida de citocinas e células imunológicas do hospedeiro (DE MAAYER; COWAN, 2016). A flagelina é reconhecida rapidamente como um Padrão Molecular Associado a Patógeno (PAMP) e por isso acredita-se que *S. Typhimurium* alterne a secreção de FliC e FljB para evitar o recrutamento de receptores do tipo Toll (TLR5) (BONIFIELD; HUGHES, 2003). É importante que a montagem flagelar siga um tempo correto e a secreção de substratos ocorra de acordo com a transcrição de cada classe de genes, mantendo assim um padrão sincronizado da montagem de diferentes flagelos ao mesmo tempo (ALTEGOER; BANGE, 2015).

2.1.4 Lipopolissacarídeo

O lipopolissacarídeo (LPS) é o componente mais externo do envelope celular em bactérias Gram-negativas, sendo o primeiro contato que a bactéria tem com a célula do hospedeiro. É formado pelo lipídio A, também chamado endotoxina, uma porção intermediária oligossacarídica e o polissacarídeo distal (antígeno O) (RAETZ; WHITFIELD, 2002). O LPS também é reconhecido como um PAMP pelo sistema imunológico, através dos receptores do tipo Toll TLR4, ativando macrófagos na síntese do fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina IL-1 β (RAETZ; REYNOLDS; TRENT; BISHOP, 2007). O lipídio A de enterobactérias passa por diversas modificações em sua estrutura a fim de evitar a ação de peptídeos catiônicos antimicrobianos (CAMP) e essas alterações são mediadas por

enzimas, como LpxO (miristoilação 2-hidroxil das cadeias acil), LpxT (adição de fosfato na posição 1), LpxR (inibidor de LpxT), PagL (deacilase), PagP (palmitoil transferase), EptA (ou PmrC, adiciona fosfoetanolamina na posição 1), ArnT (adição de amino arabinose na posição 4), entre outras (HONG; CHEN; GROISMAN, 2018; RAETZ; REYNOLDS; TRENT; BISHOP, 2007). As modificações do lipídio A levam a uma maior resistência a polimixina B, devido a uma alteração na carga da membrana, impedindo a ligação do antimicrobiano (HONG; CHEN; GROISMAN, 2018).

O antígeno O está envolvido na resistência à fagocitose, CAMP e sistema complemento, e isto depende diretamente do seu tamanho e sua distribuição ao longo da membrana. *S. Typhimurium* possui uma distribuição tri-modal (incluindo as cadeias curtas), inicialmente associadas às co-polimerases Wzz, onde WzzST (ou WzzB) sintetiza cadeias longas com cerca de 35 unidades de repetição (RU) e WzzfepE (ou FepE) sintetiza cadeias muito longas com mais de 100 RU (HÖLZER; SCHLUMBERGER; JÄCKEL; HENSEL, 2009). Tais RU polissacarídicas variam de acordo com a espécie bacteriana, e em *S. Typhimurium* o antígeno O consiste em cadeias de ramnose, galactose e manose (DELGADO; MOUSLIM; GROISMAN, 2006). Em trabalhos anteriores feitos pelo grupo foi visto que as co-polimerases do antígeno O são importantes durante a colonização em camundongos C57BL/6, além de promoverem o processo inflamatório (necessário em sorovares intestinais de *Salmonella*), e aumentam a resistência ao sistema complemento (DA SILVA; MANIERI; HERRERA; TRENT *et al.*, 2018; HÖLZER; SCHLUMBERGER; JÄCKEL; HENSEL, 2009).

2.1.5 Adesinas

De forma geral, adesinas são proteínas de membrana que possuem um papel fundamental na virulência inicial de diversas enterobactérias. *E. coli* patogênicas possuem em média 14 adesinas fimbriais e ao menos 10 adesinas não-fimbriais (CHAHALES; THANASSI, 2015). *Yersinia pestis* tem ao menos 13 adesinas autotransportadas e 8 adesinas fimbriais (CHAUHAN; WROBEL; SKURNIK; LEO, 2016), enquanto que análises genômicas mostraram que *Salmonella Typhimurium* possui 12 adesinas do tipo chaperona-*usher*, 1 fímbria *curli*, 2 adesinas secretadas por T1SS, 3 adesinas autotransportadas e 2 adesinas atípicas (HANSMEIER; MISKIEWICZ; ELPERS; LISS *et al.*, 2017; WEENING; BARKER; LAARAKKER; HUMPHRIES *et al.*, 2005). A expressão de adesinas é hospedeiro-dependente, o que explica o fato de a maior parte delas não apresentar expressão em condições laboratoriais – as únicas adesinas de *Salmonella* já detectadas em laboratório são a fímbria tipo I, fímbria *curli* e SiiE, secretada via T1SS (HANSMEIER;

MISKIEWICZ; ELPERS; LISS *et al.*, 2017). Como consequência, pouco se sabe sobre sua estrutura, ligantes e seu papel na patogênese.

As adesinas podem ser montadas por diferentes sistemas: a via da chaperona-*usher*, a via da nucleação extracelular, adesinas autotransportadas e um sistema especial para pílí tipo IV, semelhante ao Sistema de Secreção do Tipo 2 (T2SS) (WAGNER; HENSEL, 2011). A via da chaperona-*usher* foi estudada detalhadamente e consiste no envio de subunidades proteicas direcionadas ao periplasma através da via de secreção geral (GSP), com a clivagem da região N-terminal durante o processo (WAGNER; HENSEL, 2011). No periplasma ocorre interação com chaperonas seguida da interação com o *usher*, que são proteínas de membrana externa que coordenam a montagem fimbrial. No topo da estrutura há o *tip*, a subunidade distal que irá interagir com a célula do hospedeiro. As fímbrias pertencentes ao grupo das chaperona-*usher* são Fim, Bcf, Stf, Sth, Stb, Stj, Saf, Pef, Lpf, Sti, Stc e Std (HANSMEIER; MISKIEWICZ; ELPERS; LISS *et al.*, 2017; WAGNER; HENSEL, 2011). A via de nucleação extracelular é responsável por montar adesinas fimbriais também denominadas “fímbrias finas agregativas” (Tafi ou *curli*). As subunidades fimbriais são transportadas pela GSP e, com auxílio de uma lipoproteína codificada no mesmo operon fimbrial, são enviadas através da membrana (BARNHART; CHAPMAN, 2006). A principal diferença entre a via da chaperona-*usher* e a via de nucleação extracelular é que na primeira as subunidades são montadas no periplasma, enquanto na segunda a montagem ocorre fora do envelope celular. As adesinas fimbriais que são montadas por este sistema são também conhecidas como fímbria *curli* (*csgGFED* e *csgBACEFG*) (BARNHART; CHAPMAN, 2006).

As adesinas autotransportadas (também caracterizadas como um T5SS) são montadas através de um sistema de substrato proteico que possui um sinal N-terminal de reconhecimento, que ativa o transporte pela GSP. Em seguida, o segmento C-terminal (domínio beta) forma um barril beta na membrana externa, que permite a passagem até o espaço extracelular (DAUTIN; BERNSTEIN, 2007). SdhA e MisL são adesinas monoméricas enquanto SadA é um auto transportador trimérico de adesinas (WAGNER; HENSEL, 2011). As adesinas secretadas por T1SS (SiiE e BapA) são as maiores proteínas de *Salmonella* e são secretadas através do túnel formado pela montagem do T1SS, que conecta o citoplasma e a membrana externa e permite a secreção das proteínas gigantes, bem como enzimas e outras moléculas (WAGNER; BARLAG; GERLACH; DEIWICK *et al.*, 2014). O sistema especial de montagem para pílí tipo IV é encontrado em *S. Typhi* e é codificado em SPI-7 (ilha presente apenas em sorovares tifoidais) e possui 11 genes

dedicados à montagem da estrutura: as subunidades de pilina PilS são enviadas ao periplasma pela GSP, onde ocorre clivagem da região N-terminal e projeção da pilina por uma secretina (ZHANG; TSUI; YIP; FUNG *et al.*, 2000). Por fim, as adesinas atípicas são compostas de lipoproteínas de membrana externa (PagN e Rck) que possuem algum papel de aderência, embora esta não seja sua função principal (HANSMEIER; MISKIEWICZ; ELPERS; LISS *et al.*, 2017).

2.1.6 Resposta ao estresse

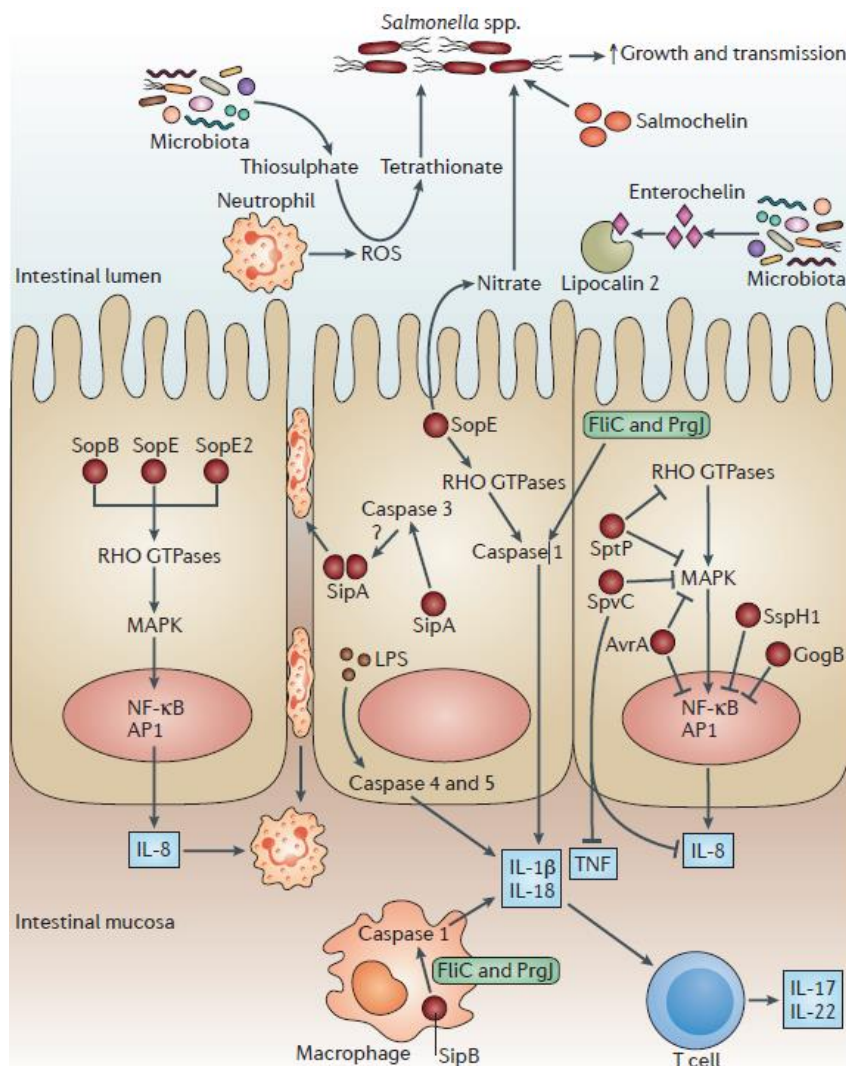
S. Typhimurium coloniza o trato gastrointestinal de diversos mamíferos e, para atingir a região íleo terminal, deve resistir a diferentes condições como ácido estomacal, sais biliares, suco pancreático e prevalecer no lúmen intestinal (KENNEY, 2019). Após ganhar o epitélio, *Salmonella* utiliza diversos mecanismos citados anteriormente para sobreviver e se replicar no SCV, deparando-se com a acidificação do microambiente. Em *E. coli*, alguns sistemas de resposta ácida já foram descritos e são bem elucidados, como os sistemas consumidores de prótons dependentes de aminoácidos. Entre eles, estão o sistema GadABC (glutamina), AdiAC (arginina), SpeF/PotE (ornitina, putrescina) e CadAB (lisina, cadaverina) (PORTER, 2016). Também foram descritos sistemas fisiológicos de resposta ácida em *E. coli*, como as enzimas arginina desaminase (ArcA), ornitina transcarboxilase (ArcB) e carbamato quinase (ArcC), a proteína ligadora de DNA Dps e as chaperonas HdeA e HdeB, codificadas pela ilha de aptidão ácida (AFI) (CHOI; BAUMLER; KASPAR, 2000; TAPLEY; FRANZMANN; CHAKRABORTY; JAKOB *et al.*, 2010).

Em *Salmonella*, o sistema de dois componentes OmpR/EnvZ controla a expressão do sistema SsrAB, codificado em SPI-2, através da acidificação citoplasmática em resposta à acidificação do meio, e assim ativando a transcrição de SPI-2 (CHAKRABORTY; MIZUSAKI; KENNEY, 2015). O sistema CadAB/CadC também foi descrito como parte da adaptação e resposta ácida de *Salmonella*, por meio da repressão via OmpR que impede a neutralização citoplasmática dentro do SCV (CHAKRABORTY; MIZUSAKI; KENNEY, 2015). Entretanto, *Salmonella* não possui o sistema GadABC e não possui uma variedade de sistemas específicos de resposta ácida como é visto em *E. coli*. Ao invés disso, parece contar com diversos genes de tolerância ao estresse, como o regulador global RpoS (FOSTER, 1995; RICHARD; FOSTER, 2003).

2.2 *Salmonella* e o hospedeiro

A estratégia utilizada por *S. Typhimurium* de colonização do trato gastrointestinal é baseada em fatores de virulência que permitem invasão celular e replicação em fagócitos, o que resulta em um quadro de diarreia aguda inflamatória (KEESTRA-GOUNDER; TSOLIS; BÄUMLER, 2015). As diversas proteínas reconhecidas como PAMPs (flagelina, antígeno O, lipoproteínas, fímbria *curli*) ativam uma cascata imunológica e recrutam diversas células para o lúmen intestinal, um verdadeiro arsenal para combater a infecção (KEESTRA-GOUNDER; TSOLIS; BÄUMLER, 2015). Porém, essa sequência de eventos mostrou ser benéfica para sorovares intestinais de *Salmonella*, permitindo competição com demais membros na microbiota e maior abundância do patógeno devido ao uso de rotas metabólicas alternativas (THIENNIMITR; WINTER; BÄUMLER, 2012). A Figura 2 ilustra a interação de *S. Typhimurium* com a célula epitelial do hospedeiro e seus mecanismos principais de colonização. Dessa forma, a virulência está diretamente associada ao metabolismo do patógeno e à resposta do hospedeiro, tornando cada vez mais difícil de se estudar os dois processos separadamente, pois este também é fator crucial para o sucesso da infecção.

Figura 2. Os mecanismos utilizados por *S. Typhimurium* na colonização da mucosa intestinal do hospedeiro



Fonte: LAROCK et al., Nature Reviews. 2015.

Figura 2. A colonização promovida por *S. Typhimurium* na mucosa intestinal: os diversos meios de promover crescimento no lúmen intestinal e a interação de efetores secretados com as proteínas da célula eucariótica favorecem o processo infeccioso.

2.2.1 Imunidade inata

Após a chegada ao trato gastrointestinal, *Salmonella* vai em busca de locais específicos para iniciar a invasão da célula hospedeira, preferencialmente células M. As células M atuam como apresentadoras de antígeno, e transportam alguns antígenos bacterianos ao tecido linfóide subjacente onde a resposta imune se inicia (TAKAYA; YAMAMOTO; TOKOYODA, 2019). Concomitantemente, *Salmonella Typhi* e

S. Typhimurium exploram estas células como um nicho de colonização via T3SS de SPI-1 (WANG; QAZI; WANG; ZHOU *et al.*, 2020). A resposta imune no lúmen é dominada por TLR5 que reconhecem a flagelina e ativam células apresentadoras de antígeno, levando à produção de linfócitos T CD4+ (KEESTRA-GOUNDER; TSOLIS; BÄUMLER, 2015). Ao contrário do que se imaginava, macrófagos intestinais não possuem o receptor CD14 para LPS, logo a resposta imune no lúmen não ocorre via TLR4 (SMITH; SMYTHIES; MOSTELLER-BARNUM; SIBLEY *et al.*, 2001). A fímbria *curli* também é reconhecida e pode ativar TLR2, que por sua vez ativa a produção de fator nuclear (NF- κ B) e leva à transcrição de genes pró-inflamatórios (TÜKEL; WILSON; NISHIMORI; PEZESHKI *et al.*, 2009). Já na célula epitelial, a secreção de efetores como SopE leva à ativação de receptores tipo NOD1-RIP2 através de Rac1-GTP (forma ativa da Rac1). Estes por sua vez levam à produção de NF- κ B que leva à transcrição de pró-interleucina-18 (ProIL-18). A IL-18 então atua como sinalizadora no recrutamento de células T e natural killer, que também ativam a produção de NF- κ B e posteriormente a produção de interferon (IFN- γ) (KEESTRA-GOUNDER; TSOLIS; BÄUMLER, 2015). SipA também é capaz de ativar a via de sinalização NOD1-NOD2, que monitoram o citoplasma em busca de fragmentos de parede celular bacteriana (KEESTRA; WINTER; KLEIN-DOUWEL; XAVIER *et al.*, 2011). A lise do SCV, que pode ocorrer após replicação intracelular ou através de proteínas ligadoras de guanilato (GBP), libera as bactérias no citoplasma da célula hospedeira e assim ativam a via do inflamassoma (via das caspases). O LPS de *Salmonella* ativa a produção de caspase, que leva à piroptose para liberar as bactérias da célula. A associação de caspases (em camundongos caspase 11; em humanos caspases 4 e 5) com a caspase 1 também eleva a produção de interleucinas IL-18 e IL-1 β (MIAO; LEAF; TREUTING; MAO *et al.*, 2010).

O sistema complemento também participa da resposta inata, e sua ativação se inicia após a reação de cadeias hidroxil do LPS com o fator C3b. Este se liga ao fator B, e posteriormente é clivado em C3a e C3b, promovendo fixação do C3b à célula bacteriana e levando à sua opsonização. Além disso, também pode ocorrer a ativação de C5a que, além de ativar citocinas via TLR4, é um quimioatrativo para neutrófilos (DENSEN; MACKEEN; CLARK, 1982; KEESTRA-GOUNDER; TSOLIS; BÄUMLER, 2015). A bacteremia provocada em alguns casos por *S. Typhimurium* invasiva (ST313) pode estar relacionada com a redução no número de neutrófilos em pacientes imunocomprometidos, uma vez que essas células formam uma barreira protetiva (TUMBARELLO; TACCONELLI; CAPONERA; CAUDA *et al.*, 1995). Além disso, sabe-se que *S. Typhi* consegue causar

doença sistêmica pois impede a ativação do sistema complemento e demais quimiocinas que recrutam neutrófilos (KEESTRA-GOUNDER; TSOLIS; BÄUMLER, 2015).

2.2.2 Imunidade adaptativa

A migração de *S. Typhimurium* para fora de células fagocíticas ou para células epiteliais adjacentes é fundamental para persistência do patógeno, no entanto há o contato com neutrófilos e fluidos que contêm anticorpos. A imunidade adaptativa (celular e humoral) é parte de uma resposta imune tardia, que segundo estudos anteriores, não seria importante para o processo infeccioso de *Salmonella* ou mesmo que não faria parte da resposta ao patógeno (TAKAYA; YAMAMOTO; TOKOYODA, 2019). No entanto, estudos recentes identificaram que *S. Typhimurium* inibe a secreção de anticorpos IgG por células do plasma na medula óssea de camundongos (principal fonte de IgG), através da secreção da adesina SiiE (MÄNNE; TAKAYA; YAMASAKI; MURSELL *et al.*, 2019). A proteína SiiE possui 53 RU de imunoglobulina bacteriana (BIg), e prejudica a persistência de células do plasma secretoras de IgG de um modo antígeno-específico (WAGNER; BARLAG; GERLACH; DEIWICK *et al.*, 2014). O gene *siiE* em *S. Typhi* possui duas ORFs distintas, sugerindo ser um pseudogene e dessa forma não seria essencial na colonização por sorovares tifoidais (MAIN-HESTER; COLPITTS; THOMAS; FANG *et al.*, 2008). Há ainda outra evidência da participação da imunidade adaptativa no processo infeccioso: foi demonstrado que SteD interfere na *expressão* de MHC II na superfície da célula, o que leva a um atraso ou falha na resposta adaptativa do hospedeiro (WANG; QAZI; WANG; ZHOU *et al.*, 2020).

2.2.3 Metabolismo

Além dos mecanismos próprios para evasão do sistema imunológico, *S. Typhimurium* também possui diversas estratégias para competir com a microbiota intestinal e causar a infecção, sendo que boa parte delas está associada a seu metabolismo *in vivo* (HERRERO-FRESNO; OLSEN, 2018). *S. Typhimurium* precisa resistir a diferentes pH, desde o ambiente gástrico até o suco pancreático e sais biliares para então atingir o lúmen intestinal. A gastroenterite provocada por *S. Typhimurium* é resultado de um processo inflamatório da mucosa intestinal, e é através da inflamação que *Salmonella* consegue liberar alguns fatores que podem ser usados como fontes de nutrientes, gerando uma vantagem de crescimento em relação à microbiota (NUCCIO; BÄUMLER, 2014). O tetracionato pode ser utilizado como fonte de energia, através da reação do tiosulfato (produto da respiração da microbiota) com espécies reativas de oxigênio (ROS) liberada por

neutrófilos (LAROOCK; CHAUDHARY; MILLER, 2015). O operon *ttrACBSR* é codificado em SPI-2 e confere vantagem à *Salmonella* já que membros da microbiota intestinal não conseguem utilizá-lo para obtenção de energia (WINTER; THIENNIMITR; WINTER; BUTLER *et al.*, 2010). A presença de aceptores de elétrons alternativos permite o crescimento de *S. Typhimurium* em fontes de carbono não-fermentáveis, como a etanolamina, que é produzida pela degradação microbiana de fosfatidiletanolamina (HERRERO-FRESNO; OLSEN, 2018). O operon *eut*, bem como o operon de síntese de vitamina B12 (*cbi* e *cob*) são necessários para utilização de etanolamina em condições anaeróbicas. A vitamina B12 também é necessária para utilização do 1,2-propanodiol, um produto da microbiota produzido após fermentação da fucose ou da ramnose (FABER; THIENNIMITR; SPIGA; BYNDLOSS *et al.*, 2017; HERRERO-FRESNO; OLSEN, 2018).

Salmonella também possui um sideróforo próprio denominado salmoquelina, uma versão glicosilada da enteroquelina presente em enterobactérias (BISTER; BISCHOFF; NICHOLSON; VALDEBENITO *et al.*, 2004). Desse modo, *Salmonella* consegue evitar a ação da lipocalina 2 e obter o ferro necessário para seu crescimento (LAROOCK; CHAUDHARY; MILLER, 2015). Além disso, diversos ácidos graxos de cadeia curta acumulam no lúmen quando anaeróbios estritos degradam carboidratos complexos, e *Salmonella* consegue realizar a beta-oxidação na presença de aceptores de elétrons alternativos como nitrato, óxidos de enxofre ou óxidos de amina (BRONNER; FABER; OLSAN; BYNDLOSS *et al.*, 2018). Como já evidenciado anteriormente por Deatherage Kaiser e colaboradores, o crescimento de *Salmonella* no lúmen intestinal também é favorecido por comensais do gênero *Bacteroides* devido à quebra da mucina e liberação de fucose, que pode ser utilizada por *Salmonella* como fonte de carbono (DEATHERAGE KAISER; LI; SANFORD; KIM *et al.*, 2013). Dessa forma, os filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* são reduzidos em população, enquanto *Salmonella* e *Enterococcus* predominam no ambiente inflamado (DEATHERAGE KAISER; LI; SANFORD; KIM *et al.*, 2013).

2.3 Sinalização química

Procariotos e eucariotos utilizam a comunicação célula-célula através de sinais químicos, sendo que essa sinalização pode ser intra-espécie e interespecífica, ou mesmo intra e inter-Reinos (SPERANDIO; TORRES; JARVIS; NATARO *et al.*, 2003). A sinalização química (ou *quorum sensing* - QS) faz com que bactérias compartilhem a informação sobre a sua densidade celular e ajustem a expressão gênica de acordo com o

ambiente. A detecção de sinais químicos tanto do hospedeiro como de outras populações bacterianas permite a execução de diversas atividades que são benéficas para as bactérias quando executadas em grupo, levando a uma ação sincronizada (RUTHERFORD; BASSLER, 2012). Entre estes processos destacam-se biofilme, bioluminescência, esporulação, produção de agentes antimicrobianos e ativação da virulência (NG; BASSLER, 2009). Gram-positivos e gram-negativos utilizam diferentes tipos de sistemas de sinalização química: enquanto gram-positivos utilizam peptídeos autoindutores (AIP), gram-negativos produzem autoindutores (AI) do tipo acil homoserina lactona (AHL) ou moléculas que dependem de S-adenosilmetionina como substrato (RUTHERFORD; BASSLER, 2012). Os principais circuitos canônicos de sinalização química bacterianos dependentes de AHL em gram-negativos são compostos por sistema de dois componentes.

2.3.1 Sistema QseBC

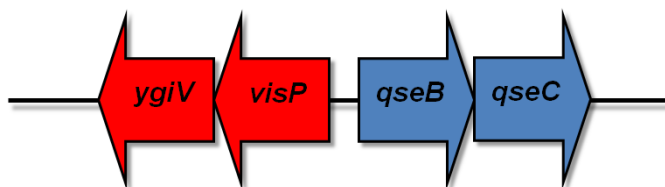
Um dos sistemas de dois componentes previamente caracterizado em enterobactérias foi denominado QseBC (*Quorum sensing proteins B and C*) (SPERANDIO; TORRES; KAPER, 2002). A sinalização química via QseBC ocorre via o sensor histidina quinase (HK) QseC, que detecta epinefrina, norepinefrina e autoindutor 3 (AI-3) (KIM; GATSIOS; CUESTA; LAM *et al.*, 2020), e em seguida se autofosforila e transfere o grupo fosfato ao seu regulador de resposta (RR) QseB, que uma vez fosforilado ativa a transcrição gênica (SPERANDIO; TORRES; JARVIS; NATARO *et al.*, 2003). O sistema QseBC foi descrito inicialmente em *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) como um dos ativadores de genes de virulência como o *Locus of Enterocyte Effacement* (LEE), motilidade, biofilme e expressão de Shiga toxina (Stx) (CLARKE; HUGHES; ZHU; BOEDEKER *et al.*, 2006). Em seguida, verificou-se a presença do mesmo sistema de dois componentes em outras enterobactérias, como *E. coli* enteropatogênica (EPEC) (SIRCILI; WALTERS; TRABULSI; SPERANDIO, 2004), *E. coli* uropatogênica (UPEC) (HADJIFRANGISKOU; KOSTAKIOTI; CHEN; HENDERSON *et al.*, 2011), *Salmonella enterica* (MOREIRA; WEINSHENKER; SPERANDIO, 2010; PATEL; GALÁN, 2006), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (JUÁREZ-RODRÍGUEZ; TORRES-ESCOBAR; DEMUTH, 2013), *Haemophilus influenzae* (UNAL; SINGH; FLEURY; SINGH *et al.*, 2012), *Aeromonas hydrophila* (KHAJANCHI; KOZLOVA; SHA; POPOV *et al.*, 2012), *Edwardsiella tarda* (WANG; WANG; YANG; XIAO *et al.*, 2011), *Francisella tularensis* (MOKRIEVICH; KONDAKOVA; VALADE; PLATONOV *et al.*, 2010), entre outros.

Outro sistema de dois componentes regulado por epinefrina, porém abaixo na cascata regulatória é o sistema QseEF, visto em EHEC e *S. Typhimurium* (MOREIRA;

SPERANDIO, 2012; READING; TORRES; KENDALL; HUGHES *et al.*, 2007). A HK QseE detecta epinefrina e íons sulfato e fosfato, enquanto o RR QseF regula a ilha de patogenicidade LEE em EHEC (NJOROGE; SPERANDIO, 2012) e SPI-1 em *Salmonella* (MOREIRA; SPERANDIO, 2012). Também foi encontrada a evidência de regulação cruzada entre sistemas de dois componentes, como é o caso da interação entre QseEF e QseBC em *S. Typhimurium* (MOREIRA; SPERANDIO, 2012) e também a interação entre QseBC e PmrAB em UPEC (BRELAND; ZHANG; BERMUDEZ; MARTINEZ *et al.*, 2017).

Durante a caracterização de QseC na patogênese de *S. Typhimurium* (MOREIRA; WEINSHENKER; SPERANDIO, 2010), foi identificada uma proteína periplasmática previamente denominada YgiW, e atualmente VisP (*Virulence and stress-related periplasmic protein*), que demonstrou participar tanto de funções celulares básicas e manutenção de membrana, como também na virulência e sobrevivência em macrófagos (MOREIRA; HERRERA; NEEDHAM; PARKER *et al.*, 2013). A localização genômica de *visP* revela que esse gene faz parte do regulon de *qseBC*, codificado em um operon adjacente e de direção oposta como ilustrado na Figura 3.

Figura 3. Organização genômica de *visP/ygiV* e *qseBC*



Fonte: adaptado de (MOREIRA; HERRERA; NEEDHAM; PARKER *et al.*, 2013)

Figura 3. Organização genômica de *visP/ygiV* e *qseBC*. A localização genômica de *visP* revela que este gene faz parte do regulon de *qseBC*, codificado em um operon adjacente e de direção oposta.

Em um estudo proteômico comparativo da chaperona SecB em *E. coli*, verificou-se que VisP era SecB-dependente (BAARS; YTTERBERG; DREW; WAGNER *et al.*, 2006), e também estava relacionada ao estresse em um estudo de *E. coli* ambiental (LEE; HIIBEL; REARDON; WOOD, 2010). Em *S. Typhimurium* foi visto que essa proteína responde a agentes antimicrobianos como a polimixina B (MERIGHI; SEPTER; CARROLL-PORTILLO; BHATIYA *et al.*, 2009). Em *A. actinomycetemcomitans*, verificou-se a presença de *ygiW* e sua co-expressão com *qseBC*, no entanto *ygiW* – ao contrário do que é

visto em *S. Typhimurium* na Figura 3 – é codificada na mesma direção de *qseBC*, enquanto que *ygiV* é ausente (JUÁREZ-RODRÍGUEZ; TORRES-ESCOBAR; DEMUTH, 2013). YgiV é uma proteína de função ainda desconhecida, e possui domínios de ligação ao DNA e também hélice-volta-hélice, o que a classificaria como um regulador transcricional da família AraC/XylS (YANG; TAUSCHEK; ROBINS-BROWNE, 2011). Em *E. coli*, YgiV foi citado como repressor transcricional de *mcbR*, gene que regula a expressão de biofilme (ZHANG; GARCÍA-CONTRERAS; WOOD, 2008).

A proteína VisP pertence à família BOF e liga-se a oligossacarídeos abundantes no peptidoglicano, como a N-acetil-glicosamina (NAG) e o N-acetilmurâmico (NAM) (MOREIRA; HERRERA; NEEDHAM; PARKER *et al.*, 2013). Também foi evidenciada a participação de VisP na replicação intracelular e no modelo de infecção *in vivo* de *S. Typhimurium*, na motilidade, resistência a H₂O₂ e modificações do lipídio A via LpxO (MOREIRA; HERRERA; NEEDHAM; PARKER *et al.*, 2013). Também foi verificada a superexpressão de *visP* no mutante $\Delta qseC$ de *S. Typhimurium* em um *microarray* (MOREIRA; HERRERA; NEEDHAM; PARKER *et al.*, 2013) e também via qRT-PCR (MANIERI, dados não publicados), semelhante ao que foi visto em EHEC e outro estudo anterior de *Salmonella* (CIRILLO; VALDIVIA; MONACK; FALKOW, 1998).

Em EHEC, foi evidenciado que o RR QseB ativa a transcrição de *flhDC* em duas regiões regulatórias distintas: um dos sítios de ligação mais próximo do início da transcrição de *flhDC*, de menor afinidade (entre -300 pb e +50 pb) e outro sítio mais distante, de maior afinidade (entre -650 e -900 pb), possivelmente saturando ambos os sítios. Esse padrão de ligação também foi descrito para o próprio promotor de *qseB* em EHEC, porém o sítio de maior afinidade neste caso seria o mais próximo do início da transcrição (CLARKE; SPERANDIO, 2005a). A interação de FliA (σ^{28}) com a região regulatória de *flhDC* também foi descrita, indicando uma possível ligação de FliA em sua região promotora (CLARKE; SPERANDIO, 2005b). FliA faz parte da classe II da cascata de transcrição flagelar, e atua principalmente como um *feedback* para a mudança de transcrição e consequente secreção de substrato (CHEVANCE; HUGHES, 2008). Após a montagem completa do gancho flagelar, FlgM deixa de se ligar a FliA e é exportado via T3SS do flagelo, deixando este fator transcricional livre para ativar a secreção de genes de classe III, como as flagelinas e genes responsável pelo sistema de quimiotaxia (CHEVANCE; HUGHES, 2008).

Em *S. Typhimurium*, foram mapeados 6 promotores na região regulatória de *flhDC*, incluindo sítios de ligação da proteína receptora de AMP cíclico (cAMP-CRP) (YANAGIHARA; IYODA; OHNISHI; IINO *et al.*, 1999). QseC foi descrito como um

sensor quinase atuante em ambas as ilhas SPI-1 e SPI-2, além de afetar a motilidade, a invasão em células epiteliais, sobrevivência em macrófagos e infecção sistêmica no modelo de camundongos Swiss (MOREIRA; WEINSHENKER; SPERANDIO, 2010). Também foi constatado que a deleção de *qseC* reduziu a expressão de *sifA*, e o bloqueio do sensor quinase através da molécula LED209 também reduziu a expressão de *flhDC* (RASKO; MOREIRA; LI; READING et al., 2008). A motilidade mediada por norepinefrina em *S. Typhimurium* também foi reduzida com a deleção de *qseC* em ágar semi-sólido LB e DMEM (BEARSON; BEARSON, 2008; MOREIRA; WEINSHENKER; SPERANDIO, 2010), bem como a colonização e excreção de *Salmonella* nas fezes de leitões e a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) em sítios diversos, como tonsilas, placas de Peyer e ceco (BEARSON; BEARSON, 2008).

2.3.2 *QseC* como alvo terapêutico

A resistência microbiana é hoje um dos maiores problemas de saúde pública, com um número cada vez maior de infecções multidroga-resistentes não responsivas ao tratamento com antimicrobianos. Os antimicrobianos mais utilizados podem ser bactericidas ou bacteriostáticos, dessa forma novas estratégias precisam ser exploradas para combater o processo infeccioso (WHO, 2017a). De acordo com a OMS, as enterobactérias são nível crítico de prioridade no combate a infecções multirresistentes, principalmente as resistentes a carbapenêmicos e cefalosporinas de terceira geração, e *Salmonella* resistentes a fluoroquinolonas também se encontram na lista como prioridade alta (WHO, 2017a). A estratégia de inibição da virulência exerce uma pressão muito menor ao desenvolvimento da resistência, pois não interfere no crescimento bacteriano e através da atenuação do patógeno, permite o combate da infecção pelas células imunológicas (CURTIS; RUSSELL; MOREIRA; ADEBESIN et al., 2014). *QseC* é um alvo atrativo, pois está presente em ao menos 25 patógenos de importância clínica em humanos, animais e plantas, principalmente em enterobactérias (CURTIS; RUSSELL; MOREIRA; ADEBESIN et al., 2014).

Em um estudo anterior, foi identificada a molécula LED209 [N-fenil-4-(3-feniltioureído) benzenosulfonamida] como um inibidor de *QseC* após uma triagem de alto desempenho de 150 mil pequenos compostos (RASKO; MOREIRA; LI; READING et al., 2008). O tratamento *in vitro* com LED209 reduziu a virulência *QseC*-dependente de *S. Typhimurium*, EHEC e *F. tularensis*. Além disso, administração de LED209 durante infecção em camundongos mostrou ser eficaz para conter a virulência de *S. Typhimurium*

(RASKO; MOREIRA; LI; READING *et al.*, 2008). Em outro estudo foi verificado que o LED209 age como uma pró-droga e interage com QseC através de modificação alostérica e inativação, agindo também contra *E. coli* enteroagregativa O104:H4 e *P. aeruginosa* (CURTIS; RUSSELL; MOREIRA; ADEBESIN *et al.*, 2014). Importante destacar que sistemas de dois componentes como QseBC não são encontrados em células de mamíferos, sendo um mecanismo essencial de sinalização em procariotos e eucariotos inferiores (RUTHERFORD; BASSLER, 2012).

Em um trabalho recente, Dichtl e colaboradores verificaram que a dopamina aumenta a captação de ferro em *S. Typhimurium*, e essa sinalização é dependente de QseC, tanto *in vitro* como *in vivo*. É importante ressaltar que, desse modo, a administração de catecolaminas em pacientes com sepse pode ser perigosa (DICHTL; DEMETZ; HASCHKA; TYMOSZUK *et al.*, 2019). A utilização do LED209 para combater a infecção ou mesmo de modo profilático pode ser benéfico por bloquear o sítio do sensor quinase e assim impedir que moléculas como a epinefrina, norepinefrina e o AI-3 ativem a cascata de sinalização química (CURTIS; RUSSELL; MOREIRA; ADEBESIN *et al.*, 2014).

7 CONCLUSÃO

O sensor quinase QseC possui papel central na regulação da virulência e metabolismo de *S. Typhimurium*, e sua inativação acarreta a perda da regulação da expressão de diversos processos, incluindo a gliconeogênese, o ciclo do ácido cítrico, o crescimento anaeróbico, a cadeia de aceptores de elétrons, o funcionamento adequado dos citocromos, o transporte de açúcares, a captação de aminoácidos e transporte de ribonucleotídeos. Além disso, também afeta a expressão de genes contidos em fagos e ilhas de patogenicidade, com maior destaque para SPI-1, SPI-2, SPI-4, SPI-5, SPI-11, SPI-14 e SPI-16, além de estruturas celulares como flagelos e adesinas, genes que regulam modificações da membrana, montagem do LPS e participação na colonização em modelo *in vivo*. Seu regulador cognato QseB demonstrou similaridade ao regulador PmrA, e as análises evidenciaram sua participação em patogênese, motilidade, quimiotaxia e metabolismo, com a possibilidade de regulação cruzada entre esses sistemas. A estratégia de utilização do sistema QseBC como alvo terapêutico é ideal para o desenvolvimento de novas moléculas antivirulência e consequente atividade bacteriostática. A análise via TraDIS revelou o resistoma ácido de *S. Typhimurium* em pH 3.0, e os resultados indicaram genes essenciais inéditos a serem mais bem explorados em futuros estudos, muitos dos quais ainda não descritos em *Escherichia coli* ou mais especificamente em UPEC. O presente estudo detalhado da resposta ao estresse ácido de *S. Typhimurium* permite a compreensão de seus mecanismos de sobrevivência e multiplicação, tanto na cadeia alimentícia como na colonização de diversos hospedeiros em casos de salmonelose, assim como detalhes específicos da patogênese de *S. Typhimurium*. A partir desses dados, novas estratégias de controle do crescimento e disseminação microbianos podem ser adotadas nos diferentes setores da cadeia produtiva.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFGAN, E.; BAKER, D.; BATUT, B.; VAN DEN BEEK, M. *et al.* The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. **Nucleic Acids Res**, 46, n. W1, p. W537-W544, 07 2018.

ALDRIDGE, P. D.; WU, C.; GNERER, J.; KARLINSEY, J. E. *et al.* Regulatory protein that inhibits both synthesis and use of the target protein controls flagellar phase variation in *Salmonella enterica*. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 103, n. 30, p. 11340-11345, Jul 2006.

ALIKHAN, N. F.; ZHOU, Z.; SERGEANT, M. J.; ACHTMAN, M. A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. **PLoS Genet**, 14, n. 4, p. e1007261, 04 2018.

ALTEGOER, F.; BANGE, G. Undiscovered regions on the molecular landscape of flagellar assembly. **Curr Opin Microbiol**, 28, p. 98-105, Dec 2015.

AMAR, A.; PEZZONI, M.; PIZARRO, R. A.; COSTA, C. S. New envelope stress factors involved in σ^E activation and conditional lethality in *rpoE* mutations in *Salmonella enterica*. **Microbiology (Reading)**, 164, n. 10, p. 1293-1307, 10 2018.

AMAVISIT, P.; LIGHTFOOT, D.; BROWNING, G. F.; MARKHAM, P. F. Variation between pathogenic serovars within *Salmonella* pathogenicity islands. **J Bacteriol**, 185, n. 12, p. 3624-3635, Jun 2003.

ANDERSON, C. J.; CLARK, D. E.; ADLI, M.; KENDALL, M. M. Ethanolamine Signaling Promotes *Salmonella* Niche Recognition and Adaptation during Infection. **PLoS Pathog**, 11, n. 11, p. e1005278, Nov 2015.

ANDREWS, S. **FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data**. Versão 0.11.9. 2019.

ANDRYUSHENKO, S. V.; PERUNOVA, N. B.; BUKHARIN, O. V. Periplasmic lysozyme inhibitor PliC and its role in antilysozyme activity of enterobacteria. **Mikrobiologiya**, 83, n. 3, p. 302-311, 2014 May-Jun 2014.

AQUINO, P.; HONDA, B.; JAINI, S.; LYUBETSKAYA, A. *et al.* Coordinated regulation of acid resistance in *Escherichia coli*. **BMC Syst Biol**, 11, n. 1, p. 1, 01 06 2017.

AZIMI, T.; ZAMIRNASTA, M.; SANI, M. A.; SOLTAN DALLAL, M. M. *et al.* Molecular Mechanisms of Salmonella Effector Proteins: A Comprehensive Review. **Infect Drug Resist**, 13, p. 11-26, 2020.

BAARS, L.; YTTERBERG, A. J.; DREW, D.; WAGNER, S. *et al.* Defining the role of the Escherichia coli chaperone SecB using comparative proteomics. **J Biol Chem**, 281, n. 15, p. 10024-10034, Apr 2006.

BAKER, A. E.; O'TOOLE, G. A. Bacteria, Rev Your Engines: Stator Dynamics Regulate Flagellar Motility. **J Bacteriol**, 199, n. 12, 06 15 2017.

BARNHART, M. M.; CHAPMAN, M. R. Curli biogenesis and function. **Annu Rev Microbiol**, 60, p. 131-147, 2006.

BEARSON, B. L.; BEARSON, S. M. The role of the QseC quorum-sensing sensor kinase in colonization and norepinephrine-enhanced motility of Salmonella enterica serovar Typhimurium. **Microb Pathog**, 44, n. 4, p. 271-278, Apr 2008.

BERRI, M.; HOGAN, D.; SAADE, G.; ROCHE, S. *et al.* IPEC-1 variable immune response to different serovars of Salmonella enterica subsp. enterica. **Vet Immunol Immunopathol**, 220, p. 109989, Feb 2020.

BISTER, B.; BISCHOFF, D.; NICHOLSON, G. J.; VALDEBENITO, M. *et al.* The structure of salmochelins: C-glucosylated enterobactins of Salmonella enterica. **Biomaterials**, 17, n. 4, p. 471-481, Aug 2004.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, 30, n. 15, p. 2114-2120, Aug 2014.

BONIFIELD, H. R.; HUGHES, K. T. Flagellar phase variation in Salmonella enterica is mediated by a posttranscriptional control mechanism. **J Bacteriol**, 185, n. 12, p. 3567-3574, Jun 2003.

BRELAND, E. J.; ZHANG, E. W.; BERMUDEZ, T.; MARTINEZ, C. R. *et al.* The Histidine Residue of QseC Is Required for Canonical Signaling between QseB and PmrB in Uropathogenic Escherichia coli. **J Bacteriol**, 199, n. 18, 09 2017.

BRONNER, D. N.; FABER, F.; OLSAN, E. E.; BYNDLOSS, M. X. *et al.* Genetic Ablation of Butyrate Utilization Attenuates Gastrointestinal Salmonella Disease. **Cell Host Microbe**, 23, n. 2, p. 266-273.e264, Feb 2018.

BROWN, D. E.; LIBBY, S. J.; MORELAND, S. M.; MCCOY, M. W. *et al.* Salmonella enterica causes more severe inflammatory disease in C57/BL6 Nramp1G169 mice than Sv129S6 mice. **Vet Pathol**, 50, n. 5, p. 867-876, Sep 2013.

BUCAREY, S. A.; VILLAGRA, N. A.; MARTINIC, M. P.; TROMBERT, A. N. *et al.* The Salmonella enterica serovar Typhi tsx gene, encoding a nucleoside-specific porin, is essential for prototrophic growth in the absence of nucleosides. **Infect Immun**, 73, n. 10, p. 6210-6219, Oct 2005.

BUELS, R.; YAO, E.; DIESH, C. M.; HAYES, R. D. *et al.* JBrowse: a dynamic web platform for genome visualization and analysis. **Genome Biol**, 17, p. 66, Apr 12 2016.

BUSTOS, C. P.; MORONI, M.; CAFFER, M. I.; IVANISSEVICH, A. *et al.* Genotypic diversity of Salmonella ser. Abortusequi isolates from Argentina. **Equine Vet J**, 52, n. 1, p. 98-103, Jan 2020.

CABEZAS, C. E.; LAULIÉ, A. M.; BRIONES, A. C.; PARDO-ESTÉ, C. *et al.* Activation of regulator ArcA in the presence of hypochlorite in Salmonella enterica serovar Typhimurium. **Biochimie**, 180, p. 178-185, Jan 2021.

CAMACHO, C. **Blast+: architecture and applications**. 2009.

CAMERON, A. D.; STOEBEL, D. M.; DORMAN, C. J. DNA supercoiling is differentially regulated by environmental factors and FIS in Escherichia coli and Salmonella enterica. **Mol Microbiol**, 80, n. 1, p. 85-101, Apr 2011.

CAMERON, E. A.; GRUBER, C. C.; RITCHIE, J. M.; WALDOR, M. K. *et al.* The QseG Lipoprotein Impacts the Virulence of Enterohemorrhagic Escherichia coli and Citrobacter rodentium and Regulates Flagellar Phase Variation in Salmonella enterica Serovar Typhimurium. **Infect Immun**, 86, n. 4, 04 2018.

CARNEIRO, D. G.; ALMEIDA, F. A.; AGUILAR, A. P.; VIEIRA, N. M. *et al.* Optimizes Metabolism After Addition of Acyl-Homoserine Lactone Under Anaerobic Conditions. **Front Microbiol**, 11, p. 1459, 2020.

CHAHALES, P.; THANASSI, D. G. Structure, Function, and Assembly of Adhesive Organelles by Uropathogenic Bacteria. **Microbiol Spectr**, 3, n. 5, Oct 2015.

CHAKRABORTY, S.; MIZUSAKI, H.; KENNEY, L. J. A FRET-based DNA biosensor tracks OmpR-dependent acidification of Salmonella during macrophage infection. **PLoS Biol**, 13, n. 4, p. e1002116, Apr 2015.

CHAUHAN, N.; WROBEL, A.; SKURNIK, M.; LEO, J. C. Yersinia adhesins: An arsenal for infection. **Proteomics Clin Appl**, 10, n. 9-10, p. 949-963, 10 2016.

CHEN, H. D.; GROISMAN, E. A. The biology of the PmrA/PmrB two-component system: the major regulator of lipopolysaccharide modifications. **Annu Rev Microbiol**, 67, p. 83-112, 2013.

CHEVANCE, F. F.; HUGHES, K. T. Coordinating assembly of a bacterial macromolecular machine. **Nat Rev Microbiol**, 6, n. 6, p. 455-465, Jun 2008.

CHOI, S. H.; BAUMLER, D. J.; KASPAR, C. W. Contribution of dps to acid stress tolerance and oxidative stress tolerance in Escherichia coli O157:H7. **Appl Environ Microbiol**, 66, n. 9, p. 3911-3916, Sep 2000.

CIRILLO, D. M.; VALDIVIA, R. H.; MONACK, D. M.; FALKOW, S. Macrophage-dependent induction of the Salmonella pathogenicity island 2 type III secretion system and its role in intracellular survival. **Mol Microbiol**, 30, n. 1, p. 175-188, Oct 1998.

CLARKE, M. B.; HUGHES, D. T.; ZHU, C.; BOEDEKER, E. C. *et al.* The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 103, n. 27, p. 10420-10425, Jul 2006.

CLARKE, M. B.; SPERANDIO, V. Transcriptional autoregulation by quorum sensing Escherichia coli regulators B and C (QseBC) in enterohaemorrhagic E. coli (EHEC). **Mol Microbiol**, 58, n. 2, p. 441-455, Oct 2005a.

CLARKE, M. B.; SPERANDIO, V. Transcriptional regulation of flhDC by QseBC and sigma (FlhA) in enterohaemorrhagic Escherichia coli. **Mol Microbiol**, 57, n. 6, p. 1734-1749, Sep 2005b.

CROOKS, G. E.; HON, G.; CHANDONIA, J. M.; BRENNER, S. E. WebLogo: a sequence logo generator. **Genome Res**, 14, n. 6, p. 1188-1190, Jun 2004.

CURTIS, M. M.; RUSSELL, R.; MOREIRA, C. G.; ADEBESIN, A. M. *et al.* QseC inhibitors as an antivirulence approach for Gram-negative pathogens. **mBio**, 5, n. 6, p. e02165, Nov 2014.

CUSA, E.; OBRADORS, N.; BALDOMÀ, L.; BADÍA, J. *et al.* Genetic analysis of a chromosomal region containing genes required for assimilation of allantoin nitrogen and linked glyoxylate metabolism in *Escherichia coli*. **J Bacteriol**, 181, n. 24, p. 7479-7484, Dec 1999.

DA SILVA, P. **Caracterização do fator de transcrição YgiV e seu respectivo regulon e determinação de sua função na patogênese de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium**. 2020. (Tese de doutorado) - Ciências Biológicas, UNESP, Repositório UNESP.

DA SILVA, P.; MANIERI, F. Z.; HERRERA, C. M.; TRENT, M. S. *et al.* Novel Role of VisP and the Wzz System during O-Antigen Assembly in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Pathogenesis. **Infect Immun**, 86, n. 8, Aug 2018.

DATSENKO, K. A.; WANNER, B. L. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 97, n. 12, p. 6640-6645, Jun 2000.

DAUTIN, N.; BERNSTEIN, H. D. Protein secretion in gram-negative bacteria via the autotransporter pathway. **Annu Rev Microbiol**, 61, p. 89-112, 2007.

DE MAAYER, P.; COWAN, D. A. Flashy flagella: flagellin modification is relatively common and highly versatile among the Enterobacteriaceae. **BMC Genomics**, 17, p. 377, 2016.

DEATHERAGE KAISER, B. L.; LI, J.; SANFORD, J. A.; KIM, Y. M. *et al.* A Multi-Omic View of Host-Pathogen-Commensal Interplay in *Salmonella*-Mediated Intestinal Infection. **PLoS One**, 8, n. 6, p. e67155, 2013.

DELGADO, M. A.; MOUSLIM, C.; GROISMAN, E. A. The PmrA/PmrB and RcsC/YojN/RcsB systems control expression of the *Salmonella* O-antigen chain length determinant. **Mol Microbiol**, 60, n. 1, p. 39-50, Apr 2006.

DENSEN, P.; MACKEEN, L. A.; CLARK, R. A. Dissemination of gonococcal infection is associated with delayed stimulation of complement-dependent neutrophil chemotaxis in vitro. **Infect Immun**, 38, n. 2, p. 563-572, Nov 1982.

DEWEILER, C. S.; MONACK, D. M.; BRODSKY, I. E.; MATHEW, H. *et al.* virK, somA and rcsC are important for systemic *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection and cationic peptide resistance. **Mol Microbiol**, 48, n. 2, p. 385-400, Apr 2003.

DEUTSCHER, J.; AKÉ, F. M.; DERKAOUI, M.; ZÉBRÉ, A. C. *et al.* The bacterial phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase system: regulation by protein phosphorylation and phosphorylation-dependent protein-protein interactions. **Microbiol Mol Biol Rev**, 78, n. 2, p. 231-256, Jun 2014.

DICHTL, S.; DEMETZ, E.; HASCHKA, D.; TYMOSZUK, P. *et al.* Dopamine Is a Siderophore-Like Iron Chelator That Promotes. **mBio**, 10, n. 1, 02 2019.

DOMKA, J.; LEE, J.; WOOD, T. K. YliH (BssR) and YceP (BssS) regulate Escherichia coli K-12 biofilm formation by influencing cell signaling. **Appl Environ Microbiol**, 72, n. 4, p. 2449-2459, Apr 2006.

DOS SANTOS, A. M. P.; FERRARI, R. G.; CONTE-JUNIOR, C. A. Type three secretion system in Salmonella Typhimurium: the key to infection. **Genes Genomics**, 42, n. 5, p. 495-506, May 2020.

DRESCHER, S. P. M.; GALLO, S. W.; FERREIRA, P. M. A.; FERREIRA, C. A. S. *et al.* Salmonella enterica persister cells form unstable small colony variants after in vitro exposure to ciprofloxacin. **Sci Rep**, 9, n. 1, p. 7232, 05 10 2019.

EDWARDS, M. J.; RICHARDSON, D. J.; PAQUETE, C. M.; CLARKE, T. A. Role of multiheme cytochromes involved in extracellular anaerobic respiration in bacteria. **Protein Sci**, 29, n. 4, p. 830-842, Apr 2020.

ELDER, J. R.; PAUL, N. C.; BURIN, R.; GUARD, J. *et al.* Genomic organization and role of SPI-13 in nutritional fitness of Salmonella. **Int J Med Microbiol**, 308, n. 8, p. 1043-1052, Dec 2018.

ELLERMANN, M.; PACHECO, A. R.; JIMENEZ, A. G.; RUSSELL, R. M. *et al.* Endocannabinoids Inhibit the Induction of Virulence in Enteric Pathogens. **Cell**, 183, n. 3, p. 650-665.e615, 10 29 2020.

EWELS, P.; MAGNUSSON, M.; LUNDIN, S.; KÄLLER, M. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. **Bioinformatics**, 32, n. 19, p. 3047-3048, 10 2016.

FABER, F.; THIENNIMITR, P.; SPIGA, L.; BYNDLOSS, M. X. *et al.* Respiration of Microbiota-Derived 1,2-propanediol Drives Salmonella Expansion during Colitis. **PLoS Pathog**, 13, n. 1, p. e1006129, 01 2017.

FENSKE, G. J.; THACHIL, A.; MCDONOUGH, P. L.; GLASER, A. *et al.* Geography Shapes the Population Genomics of Salmonella enterica Dublin. **Genome Biol Evol**, 11, n. 8, p. 2220-2231, 08 2019.

FLOYD, K. A.; MITCHELL, C. A.; EBERLY, A. R.; COLLING, S. J. *et al.* The Ubil (VisC) Aerobic Ubiquinone Synthase Is Required for Expression of Type 1 Pili, Biofilm Formation, and Pathogenesis in Uropathogenic *Escherichia coli*. **J Bacteriol**, 198, n. 19, p. 2662-2672, 10 01 2016.

FOOKES, M.; SCHROEDER, G. N.; LANGRIDGE, G. C.; BLONDEL, C. J. *et al.* *Salmonella bongori* provides insights into the evolution of the Salmonellae. **PLoS Pathog**, 7, n. 8, p. e1002191, Aug 2011.

FOSTER, J. W. Low pH adaptation and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. **Crit Rev Microbiol**, 21, n. 4, p. 215-237, 1995.

FRIEBEL, A.; ILCHMANN, H.; AEPFELBACHER, M.; EHRBAR, K. *et al.* SopE and SopE2 from *Salmonella typhimurium* activate different sets of RhoGTPases of the host cell. **J Biol Chem**, 276, n. 36, p. 34035-34040, Sep 2001.

GIRARDELLO, R.; BISPO, P. J.; YAMANAKA, T. M.; GALES, A. C. Cation concentration variability of four distinct Mueller-Hinton agar brands influences polymyxin B susceptibility results. **J Clin Microbiol**, 50, n. 7, p. 2414-2418, Jul 2012.

GOODALL, E. C. A.; ROBINSON, A.; JOHNSTON, I. G.; JABBARI, S. *et al.* The Essential Genome of *Escherichia coli* K-12. **mBio**, 9, n. 1, 02 20 2018.

GREEN, E. R.; MECSAS, J. Bacterial Secretion Systems: An Overview. **Microbiol Spectr**, 4, n. 1, Feb 2016.

GUCKES, K. R.; KOSTAKIOTI, M.; BRELAND, E. J.; GU, A. P. *et al.* Strong cross-system interactions drive the activation of the QseB response regulator in the absence of its cognate sensor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 110, n. 41, p. 16592-16597, Oct 2013.

GUERRA, P. R.; LIU, G.; LEMIRE, S.; NAWROCKI, A. *et al.* Polyamine depletion has global effects on stress and virulence gene expression and affects HilA translation in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. **Res Microbiol**, 171, n. 3-4, p. 143-152, 2020 Apr - Jun 2020.

GUNN, J. S.; ALPUCHE-ARANDA, C. M.; LOOMIS, W. P.; BELDEN, W. J. *et al.* Characterization of the *Salmonella typhimurium* pagC/pagD chromosomal region. **J Bacteriol**, 177, n. 17, p. 5040-5047, Sep 1995.

GÉRARD, F.; PRADEL, N.; WU, L. F. Bactericidal activity of colicin V is mediated by an inner membrane protein, SdaC, of Escherichia coli. **J Bacteriol**, 187, n. 6, p. 1945-1950, Mar 2005.

HACKER, J.; KAPER, J. B. **Pathogenicity islands and the evolution of pathogenic microbes**. 2002.

HADJIFRANGISKOU, M.; KOSTAKIOTI, M.; CHEN, S. L.; HENDERSON, J. P. *et al.* A central metabolic circuit controlled by QseC in pathogenic Escherichia coli. **Mol Microbiol**, 80, n. 6, p. 1516-1529, Jun 2011.

HALSEY, T. A.; VAZQUEZ-TORRES, A.; GRAVDAHL, D. J.; FANG, F. C. *et al.* The ferritin-like Dps protein is required for Salmonella enterica serovar Typhimurium oxidative stress resistance and virulence. **Infect Immun**, 72, n. 2, p. 1155-1158, Feb 2004.

HANSMEIER, N.; MISKIEWICZ, K.; ELPERS, L.; LISS, V. *et al.* Functional expression of the entire adhesiome of Salmonella enterica serotype Typhimurium. **Sci Rep**, 7, n. 1, p. 10326, 09 2017.

HARAGA, A.; OHLSON, M. B.; MILLER, S. I. Salmonellae interplay with host cells. **Nat Rev Microbiol**, 6, n. 1, p. 53-66, Jan 2008.

HENGGE-ARONIS, R. Signal transduction and regulatory mechanisms involved in control of the sigma(S) (RpoS) subunit of RNA polymerase. **Microbiol Mol Biol Rev**, 66, n. 3, p. 373-395, table of contents, Sep 2002.

HERRERO-FRESNO, A.; OLSEN, J. E. Salmonella Typhimurium metabolism affects virulence in the host - A mini-review. **Food Microbiol**, 71, p. 98-110, May 2018.

HIGASHIDE, W.; DAI, S.; HOMBS, V. P.; ZHOU, D. Involvement of SipA in modulating actin dynamics during Salmonella invasion into cultured epithelial cells. **Cell Microbiol**, 4, n. 6, p. 357-365, Jun 2002.

HOISETH, S. K.; STOCKER, B. A. Aromatic-dependent Salmonella typhimurium are non-virulent and effective as live vaccines. **Nature**, 291, n. 5812, p. 238-239, May 1981.

HONG, X.; CHEN, H. D.; GROISMAN, E. A. Gene expression kinetics governs stimulus-specific decoration of the Salmonella outer membrane. **Sci Signal**, 11, n. 529, 05 2018.

HUANG, K.; HERRERO-FRESNO, A.; THØFNER, I.; SKOV, S. *et al.* Interaction Differences of the Avian Host-Specific *Salmonella enterica* Serovar Gallinarum, the Host-Generalist. **Infect Immun**, 87, n. 12, 12 2019.

HÖLZER, S. U.; SCHLUMBERGER, M. C.; JÄCKEL, D.; HENSEL, M. Effect of the O-antigen length of lipopolysaccharide on the functions of Type III secretion systems in *Salmonella enterica*. **Infect Immun**, 77, n. 12, p. 5458-5470, Dec 2009.

IBANEZ-RUIZ, M.; ROBBE-SAULE, V.; HERMANT, D.; LABRUDE, S. *et al.* Identification of RpoS (σ (S))-regulated genes in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. **J Bacteriol**, 182, n. 20, p. 5749-5756, Oct 2000.

INAYATH, S. B.; BROOR, S.; GUPTA, R.; AGARWAL, P. *et al.* Validation of Pefloxacin for detection of fluoroquinolone (FQ) resistance among *Salmonella* Typhi with special reference to GyrB mutations. **J Med Microbiol**, 70, n. 8, Aug 2021.

Jl, Y.; LI, W.; ZHANG, Y.; CHEN, L. *et al.* QseB mediates biofilm formation and invasion in *Salmonella enterica* serovar Typhi. **Microb Pathog**, 104, p. 6-11, Mar 2017.

JUÁREZ-RODRÍGUEZ, M. D.; TORRES-ESCOBAR, A.; DEMUTH, D. R. ygiW and qseBC are co-expressed in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and regulate biofilm growth. **Microbiology**, 159, n. Pt 6, p. 989-1001, Jun 2013.

KAPACH, G.; NURI, R.; SCHMIDT, C.; DANIN, A. *et al.* Loss of the Periplasmic Chaperone Skp and Mutations in the Efflux Pump AcrAB-TolC Play a Role in Acquired Resistance to Antimicrobial Peptides in. **Front Microbiol**, 11, p. 189, 2020.

KEESTRA, A. M.; WINTER, M. G.; KLEIN-DOUWEL, D.; XAVIER, M. N. *et al.* A *Salmonella* virulence factor activates the NOD1/NOD2 signaling pathway. **mBio**, 2, n. 6, 2011.

KEESTRA-GOUNDER, A. M.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J. Now you see me, now you don't: the interaction of *Salmonella* with innate immune receptors. **Nat Rev Microbiol**, 13, n. 4, p. 206-216, Apr 2015.

KENNEY, L. J. The role of acid stress in *Salmonella* pathogenesis. **Curr Opin Microbiol**, 47, p. 45-51, 02 2019.

KHAJANCHI, B. K.; KOZLOVA, E. V.; SHA, J.; POPOV, V. L. *et al.* The two-component QseBC signalling system regulates in vitro and in vivo virulence of *Aeromonas hydrophila*. **Microbiology**, 158, n. Pt 1, p. 259-271, Jan 2012.

KIM, C. S.; GATSIOS, A.; CUESTA, S.; LAM, Y. C. *et al.* Characterization of Autoinducer-3 Structure and Biosynthesis in *E. coli*. **ACS Cent Sci**, 6, n. 2, p. 197-206, Feb 2020.

KIMBROUGH, T. G.; MILLER, S. I. Assembly of the type III secretion needle complex of *Salmonella typhimurium*. **Microbes Infect**, 4, n. 1, p. 75-82, Jan 2002.

KONOVALOVA, A.; GRABOWICZ, M.; BALIBAR, C. J.; MALINVERNI, J. C. *et al.* Inhibitor of intramembrane protease RseP blocks the σ E response causing lethal accumulation of unfolded outer membrane proteins. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 115, n. 28, p. E6614-E6621, 07 10 2018.

KRÖGER, C.; COLGAN, A.; SRIKUMAR, S.; HÄNDLER, K. *et al.* An infection-relevant transcriptomic compendium for *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. **Cell Host Microbe**, 14, n. 6, p. 683-695, Dec 2013.

KRÖGER, C.; DILLON, S. C.; CAMERON, A. D.; PAPENFORT, K. *et al.* The transcriptional landscape and small RNAs of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 109, n. 20, p. E1277-1286, May 2012.

LANGMEAD, B.; SALZBERG, S. L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. **Nat Methods**, 9, n. 4, p. 357-359, Mar 2012.

LAROCK, D. L.; BRZOVIC, P. S.; LEVIN, I.; BLANC, M. P. *et al.* A *Salmonella typhimurium*-translocated glycerophospholipid:cholesterol acyltransferase promotes virulence by binding to the RhoA protein switch regions. **J Biol Chem**, 287, n. 35, p. 29654-29663, Aug 2012.

LAROCK, D. L.; CHAUDHARY, A.; MILLER, S. I. Salmonellae interactions with host processes. **Nat Rev Microbiol**, 13, n. 4, p. 191-205, Apr 2015.

LAW, C. W.; CHEN, Y.; SHI, W.; SMYTH, G. K. voom: Precision weights unlock linear model analysis tools for RNA-seq read counts. **Genome Biol**, 15, n. 2, p. R29, Feb 2014.

LEDEBOER, N. A.; JONES, B. D. Exopolysaccharide sugars contribute to biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar typhimurium on HEp-2 cells and chicken intestinal epithelium. **J Bacteriol**, 187, n. 9, p. 3214-3226, May 2005.

LEE, J.; HIIBEL, S. R.; REARDON, K. F.; WOOD, T. K. Identification of stress-related proteins in *Escherichia coli* using the pollutant cis-dichloroethylene. **J Appl Microbiol**, 108, n. 6, p. 2088-2102, Jun 2010.

LEITE, L. D. S. **Análise do efeito de VisP no transcriptoma e patogenicidade de Salmonella enterica sorovar Typhimurium**. 2021. -, UNESP, Repositório institucional Unesp.

LI, Z.; JIANG, B.; ZHANG, X.; YANG, Y. *et al.* The role of bacterial cell envelope structures in acid stress resistance in *E. coli*. **Appl Microbiol Biotechnol**, 104, n. 7, p. 2911-2921, Apr 2020.

LIAO, Y.; SMYTH, G. K.; SHI, W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. **Bioinformatics**, 30, n. 7, p. 923-930, Apr 2014.

LUK-IN, S.; CHATSUWAN, T.; PULSRIKARN, C.; BANGTRAKULNONT, A. *et al.* High prevalence of ceftriaxone resistance among invasive *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis isolates in Thailand: The emergence and increase of CTX-M-55 in ciprofloxacin-resistant *S. Choleraesuis* isolates. **Int J Med Microbiol**, 308, n. 4, p. 447-453, Jun 2018.

MAGALHÃES, M. L.; ARGYROU, A.; CAHILL, S. M.; BLANCHARD, J. S. Kinetic and mechanistic analysis of the *Escherichia coli* ribD-encoded bifunctional deaminase-reductase involved in riboflavin biosynthesis. **Biochemistry**, 47, n. 24, p. 6499-6507, Jun 2008.

MAGUIRE, B. A.; WILD, D. G. Mutations in the rpmBG operon of *Escherichia coli* that affect ribosome assembly. **J Bacteriol**, 179, n. 8, p. 2486-2493, Apr 1997a.

MAGUIRE, B. A.; WILD, D. G. The effects of mutations in the rpmB,G operon of *Escherichia coli* on ribosome assembly and ribosomal protein synthesis. **Biochim Biophys Acta**, 1353, n. 2, p. 137-147, Aug 07 1997b.

MAIN-HESTER, K. L.; COLPITTS, K. M.; THOMAS, G. A.; FANG, F. C. *et al.* Coordinate regulation of *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI1) and SPI4 in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Infect Immun**, 76, n. 3, p. 1024-1035, Mar 2008.

MATSUDA, S.; HANEDA, T.; SAITO, H.; MIKI, T. *et al.* Effectors SifA, SpvB, SseF, SseJ, and SteA Contribute to Type III Secretion System 1-Independent Inflammation in a Streptomycin-Pretreated Mouse Model of Colitis. **Infect Immun**, 87, n. 9, 09 2019.

MELAKU, M.; ZHONG, R.; HAN, H.; WAN, F. *et al.* Butyric and Citric Acids and Their Salts in Poultry Nutrition: Effects on Gut Health and Intestinal Microbiota. **Int J Mol Sci**, 22, n. 19, Sep 27 2021.

MERIGHI, M.; SEPTER, A. N.; CARROLL-PORTILLO, A.; BHATIYA, A. *et al.* Genome-wide analysis of the PreA/PreB (QseB/QseC) regulon of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **BMC Microbiol**, 9, p. 42, 2009.

MIAO, E. A.; LEAF, I. A.; TREUTING, P. M.; MAO, D. P. *et al.* Caspase-1-induced pyroptosis is an innate immune effector mechanism against intracellular bacteria. **Nat Immunol**, 11, n. 12, p. 1136-1142, Dec 2010.

MILTON, M. E.; ALLEN, C. L.; FELDMANN, E. A.; BOBAY, B. G. *et al.* Structure of the Francisella response regulator QseB receiver domain, and characterization of QseB inhibition by antibiofilm 2-aminoimidazole-based compounds. **Mol Microbiol**, 106, n. 2, p. 223-235, Oct 2017.

MOKRIEVICH, A. N.; KONDAKOVA, A. N.; VALADE, E.; PLATONOV, M. E. *et al.* Biological properties and structure of the lipopolysaccharide of a vaccine strain of *Francisella tularensis* generated by inactivation of a quorum sensing system gene *qseC*. **Biochemistry (Mosc)**, 75, n. 4, p. 443-451, Apr 2010.

MOREIRA, C. G.; HERRERA, C. M.; NEEDHAM, B. D.; PARKER, C. T. *et al.* Virulence and stress-related periplasmic protein (VisP) in bacterial/host associations. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 110, n. 4, p. 1470-1475, Jan 2013.

MOREIRA, C. G.; SPERANDIO, V. Interplay between the QseC and QseE bacterial adrenergic sensor kinases in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium pathogenesis. **Infect Immun**, 80, n. 12, p. 4344-4353, Dec 2012.

MOREIRA, C. G.; WEINSHENKER, D.; SPERANDIO, V. QseC mediates *Salmonella enterica* serovar typhimurium virulence in vitro and in vivo. **Infect Immun**, 78, n. 3, p. 914-926, Mar 2010.

MÄNNE, C.; TAKAYA, A.; YAMASAKI, Y.; MURSELL, M. *et al.* SiiE prevents an efficient humoral immune memory by interfering with IgG. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 116, n. 15, p. 7425-7430, 04 2019.

NAWABI, P.; CATRON, D. M.; HALDAR, K. Esterification of cholesterol by a type III secretion effector during intracellular *Salmonella* infection. **Mol Microbiol**, 68, n. 1, p. 173-185, Apr 2008.

NG, W. L.; BASSLER, B. L. Bacterial quorum-sensing network architectures. **Annu Rev Genet**, 43, p. 197-222, 2009.

NJOROGE, J.; SPERANDIO, V. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence regulation by two bacterial adrenergic kinases, QseC and QseE. **Infect Immun**, 80, n. 2, p. 688-703, Feb 2012.

NUCCIO, S. P.; BÄUMLER, A. J. Comparative analysis of *Salmonella* genomes identifies a metabolic network for escalating growth in the inflamed gut. **mBio**, 5, n. 2, p. e00929-00914, Mar 2014.

PARKER, C. T.; RUSSELL, R.; NJOROGE, J. W.; JIMENEZ, A. G. *et al.* Genetic and Mechanistic Analyses of the Periplasmic Domain of the Enterohemorrhagic *Escherichia coli* QseC Histidine Sensor Kinase. **J Bacteriol**, 199, n. 8, Apr 2017.

PARTRIDGE, J. D.; HARSHEY, R. M. More than motility: *Salmonella* flagella contribute to overriding friction and facilitating colony hydration during swarming. **J Bacteriol**, 195, n. 5, p. 919-929, Mar 2013.

PATEL, J. C.; GALÁN, J. E. Differential activation and function of Rho GTPases during *Salmonella*-host cell interactions. **J Cell Biol**, 175, n. 3, p. 453-463, Nov 2006.

PEDROLLI, D.; LANGER, S.; HOBL, B.; SCHWARZ, J. *et al.* The ribB FMN riboswitch from *Escherichia coli* operates at the transcriptional and translational level and regulates riboflavin biosynthesis. **FEBS J**, 282, n. 16, p. 3230-3242, Aug 2015.

PEDROSO-SANTANA, S.; FLEITAS-SALAZAR, N. Ionotropic gelation method in the synthesis of nanoparticles/microparticles for biomedical purposes. **Polymer International**, 69, n. 5, p. 4, 2020.

PHAN, M. D.; PETERS, K. M.; SARKAR, S.; LUKOWSKI, S. W. *et al.* The serum resistome of a globally disseminated multidrug resistant uropathogenic *Escherichia coli* clone. **PLoS Genet**, 9, n. 10, p. e1003834, 2013.

PILAR, A. V.; REID-YU, S. A.; COOPER, C. A.; MULDER, D. T. *et al.* GogB is an anti-inflammatory effector that limits tissue damage during *Salmonella* infection through interaction with human FBXO22 and Skp1. **PLoS Pathog**, 8, n. 6, p. e1002773, 2012.

PONTIUS, J.; RICHELLE, J.; WODAK, S. J. Deviations from standard atomic volumes as a quality measure for protein crystal structures. **J Mol Biol**, 264, n. 1, p. 121-136, Nov 1996.

PORTER, A. **Characterization of the acid-resistome in major uropathogenic *Escherichia coli* lineages**. 2016. (Honours) - Chemistry and Molecular Biosciences, The University of Queensland.

QIAGEN, Q. **The QIAexpressionist: a handbook for high-level expression and purification of 6xHis-tagged proteins**. Qiagen Inc.: 2003.

RAETZ, C. R.; REYNOLDS, C. M.; TRENT, M. S.; BISHOP, R. E. Lipid A modification systems in gram-negative bacteria. **Annu Rev Biochem**, 76, p. 295-329, 2007.

RAETZ, C. R.; WHITFIELD, C. Lipopolysaccharide endotoxins. **Annu Rev Biochem**, 71, p. 635-700, 2002.

RASKO, D. A.; MOREIRA, C. G.; LI, D. R.; READING, N. C. *et al.* Targeting QseC signaling and virulence for antibiotic development. **Science**, 321, n. 5892, p. 1078-1080, Aug 2008.

READING, N. C.; TORRES, A. G.; KENDALL, M. M.; HUGHES, D. T. *et al.* A novel two-component signaling system that activates transcription of an enterohemorrhagic *Escherichia coli* effector involved in remodeling of host actin. **J Bacteriol**, 189, n. 6, p. 2468-2476, Mar 2007.

REBOLLAR-FLORES, J. E.; MEDINA-APARICIO, L.; OSIO-BECERRO, V. E.; VILLARREAL, J. M. *et al.* The *Salmonella enterica* Serovar Typhi *ltrR* gene encodes two proteins whose transcriptional expression is upregulated by alkaline pH and repressed at their promoters and coding regions by H-NS and Lrp. **J Bacteriol**, 202, n. 13, 06 09 2020.

RICHARD, H. T.; FOSTER, J. W. Acid resistance in *Escherichia coli*. **Adv Appl Microbiol**, 52, p. 167-186, 2003.

ROBINSON, M. D.; MCCARTHY, D. J.; SMYTH, G. K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics**, 26, n. 1, p. 139-140, Jan 01 2010.

ROBLIN, P.; LEBRUN, P.; RUCKTOOA, P.; DEWITTE, F. *et al.* The structural organization of the N-terminus domain of SopB, a virulence factor of *Salmonella*, depends on the nature of its protein partners. **Biochim Biophys Acta**, 1834, n. 12, p. 2564-2572, Dec 2013.

ROOKS, M. G.; VEIGA, P.; REEVES, A. Z.; LAVOIE, S. *et al.* QseC inhibition as an antivirulence approach for colitis-associated bacteria. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 114, n. 1, p. 142-147, Jan 2017.

RUTHERFORD, S. T.; BASSLER, B. L. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. **Cold Spring Harb Perspect Med**, 2, n. 11, Nov 2012.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 1989.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. **The condensed protocols from molecular cloning: a laboratory manual**. Cold Spring Harbor Laboratory, 2006. 800 p.

SHEA, J. E.; HENSEL, M.; GLEESON, C.; HOLDEN, D. W. Identification of a virulence locus encoding a second type III secretion system in *Salmonella typhimurium*. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 93, n. 6, p. 2593-2597, Mar 1996.

SIRCILI, M. P.; WALTERS, M.; TRABULSI, L. R.; SPERANDIO, V. Modulation of enteropathogenic *Escherichia coli* virulence by quorum sensing. **Infect Immun**, 72, n. 4, p. 2329-2337, Apr 2004.

SMITH, P. D.; SMYTHIES, L. E.; MOSTELLER-BARNUM, M.; SIBLEY, D. A. *et al.* Intestinal macrophages lack CD14 and CD89 and consequently are down-regulated for LPS- and IgA-mediated activities. **J Immunol**, 167, n. 5, p. 2651-2656, Sep 2001.

SPERANDIO, V.; TORRES, A. G.; JARVIS, B.; NATARO, J. P. *et al.* Bacteria-host communication: the language of hormones. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 100, n. 15, p. 8951-8956, Jul 2003.

SPERANDIO, V.; TORRES, A. G.; KAPER, J. B. Quorum sensing *Escherichia coli* regulators B and C (QseBC): a novel two-component regulatory system involved in the regulation of flagella and motility by quorum sensing in *E. coli*. **Mol Microbiol**, 43, n. 3, p. 809-821, Feb 2002.

SRIKUMAR, S.; KRÖGER, C.; HÉBRARD, M.; COLGAN, A. *et al.* RNA-seq Brings New Insights to the Intra-Macrophage Transcriptome of *Salmonella Typhimurium*. **PLoS Pathog**, 11, n. 11, p. e1005262, 2015.

STUDER, G.; REMPFER, C.; WATERHOUSE, A. M.; GUMIENNY, R. *et al.* QMEANDisCo-distance constraints applied on model quality estimation. **Bioinformatics**, 36, n. 8, p. 2647, Apr 2020.

STURMS, R.; STREAU SLIN, N. A.; CHENG, S.; BOBIK, T. A. In *Salmonella enterica*, Ethanolamine Utilization Is Repressed by 1,2-Propanediol To Prevent Detrimental Mixing of Components of Two Different Bacterial Microcompartments. **J Bacteriol**, 197, n. 14, p. 2412-2421, Jul 2015.

SUBRAMANIAN, A.; TAMAYO, P.; MOOTHA, V. K.; MUKHERJEE, S. *et al.* Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 102, n. 43, p. 15545-15550, Oct 2005.

TAKAYA, A.; YAMAMOTO, T.; TOKOYODA, K. Humoral Immunity vs Salmonella. **Front Immunol**, 10, p. 3155, 2019.

TAPLEY, T. L.; FRANZMANN, T. M.; CHAKRABORTY, S.; JAKOB, U. *et al.* Protein refolding by pH-triggered chaperone binding and release. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 107, n. 3, p. 1071-1076, Jan 19 2010.

TETSCH, L.; KOLLER, C.; HANEBURGER, I.; JUNG, K. The membrane-integrated transcriptional activator CadC of *Escherichia coli* senses lysine indirectly via the interaction with the lysine permease LysP. **Mol Microbiol**, 67, n. 3, p. 570-583, Feb 2008.

THIENNIMITR, P.; WINTER, S. E.; BÄUMLER, A. J. Salmonella, the host and its microbiota. **Curr Opin Microbiol**, 15, n. 1, p. 108-114, Feb 2012.

THORVALDSDÓTTIR, H.; ROBINSON, J. T.; MESIROV, J. P. Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. **Brief Bioinform**, 14, n. 2, p. 178-192, Mar 2013.

TIDHAR, A.; RUSHING, M. D.; KIM, B.; SLAUCH, J. M. Periplasmic superoxide dismutase SodCI of *Salmonella* binds peptidoglycan to remain tethered within the periplasm. **Mol Microbiol**, 97, n. 5, p. 832-843, Sep 2015.

TOMLIJENOVIC-BERUBE, A. M.; HENRIKSBO, B.; PORWOLLIK, S.; COOPER, C. A. *et al.* Mapping and regulation of genes within *Salmonella* pathogenicity island 12 that contribute to in vivo fitness of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. **Infect Immun**, 81, n. 7, p. 2394-2404, Jul 2013.

TORRENTS, E.; GRINBERG, I.; GOROVITZ-HARRIS, B.; LUNDSTRÖM, H. *et al.* NrdR controls differential expression of the *Escherichia coli* ribonucleotide reductase genes. **J Bacteriol**, 189, n. 14, p. 5012-5021, Jul 2007.

TOTSIKA, M.; BEATSON, S. A.; SARKAR, S.; PHAN, M. D. *et al.* Insights into a multidrug resistant *Escherichia coli* pathogen of the globally disseminated ST131 lineage: genome analysis and virulence mechanisms. **PLoS One**, 6, n. 10, p. e26578, 2011.

TRAMONTI, A.; DE CANIO, M.; DE BIASE, D. GadX/GadW-dependent regulation of the Escherichia coli acid fitness island: transcriptional control at the gadY-gadW divergent promoters and identification of four novel 42 bp GadX/GadW-specific binding sites. **Mol Microbiol**, 70, n. 4, p. 965-982, Nov 2008.

TUMBARELLO, M.; TACCONELLI, E.; CAPONERA, S.; CAUDA, R. *et al.* The impact of bacteraemia on HIV infection. Nine years experience in a large Italian university hospital. **J Infect**, 31, n. 2, p. 123-131, Sep 1995.

TÜKEL, C.; WILSON, R. P.; NISHIMORI, J. H.; PEZESHKI, M. *et al.* Responses to amyloids of microbial and host origin are mediated through toll-like receptor 2. **Cell Host Microbe**, 6, n. 1, p. 45-53, Jul 2009.

UNAL, C. M.; SINGH, B.; FLEURY, C.; SINGH, K. *et al.* QseC controls biofilm formation of non-typeable Haemophilus influenzae in addition to an AI-2-dependent mechanism. **Int J Med Microbiol**, 302, n. 6, p. 261-269, Nov 2012.

VERNIKOS, G. S.; PARKHILL, J. Interpolated variable order motifs for identification of horizontally acquired DNA: revisiting the Salmonella pathogenicity islands. **Bioinformatics**, 22, n. 18, p. 2196-2203, Sep 2006.

WAGNER, C.; BARLAG, B.; GERLACH, R. G.; DEIWICK, J. *et al.* The Salmonella enterica giant adhesin SiiE binds to polarized epithelial cells in a lectin-like manner. **Cell Microbiol**, 16, n. 6, p. 962-975, Jun 2014.

WAGNER, C.; HENSEL, M. Adhesive mechanisms of Salmonella enterica. **Adv Exp Med Biol**, 715, p. 17-34, 2011.

WALTERS, M.; SPERANDIO, V. Autoinducer 3 and epinephrine signaling in the kinetics of locus of enterocyte effacement gene expression in enterohemorrhagic Escherichia coli. **Infect Immun**, 74, n. 10, p. 5445-5455, Oct 2006.

WANG, M.; QAZI, I. H.; WANG, L.; ZHOU, G. *et al.* Salmonella Virulence and Immune Escape. **Microorganisms**, 8, n. 3, Mar 2020.

WANG, X.; WANG, Q.; YANG, M.; XIAO, J. *et al.* QseBC controls flagellar motility, fimbrial hemagglutination and intracellular virulence in fish pathogen Edwardsiella tarda. **Fish Shellfish Immunol**, 30, n. 3, p. 944-953, Mar 2011.

WARNER, D. M.; LEVY, S. B. Different effects of transcriptional regulators MarA, SoxS and Rob on susceptibility of *Escherichia coli* to cationic antimicrobial peptides (CAMPs): Rob-dependent CAMP induction of the marRAB operon. **Microbiology**, 156, n. Pt 2, p. 570-578, Feb 2010.

WATERHOUSE, A.; BERTONI, M.; BIENERT, S.; STUDER, G. *et al.* SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Res**, 46, n. W1, p. W296-W303, 07 2018.

WEENING, E. H.; BARKER, J. D.; LAARAKKER, M. C.; HUMPHRIES, A. D. *et al.* The *Salmonella enterica* serotype Typhimurium *lpf*, *bcf*, *stb*, *stc*, *std*, and *sth* fimbrial operons are required for intestinal persistence in mice. **Infect Immun**, 73, n. 6, p. 3358-3366, Jun 2005.

WHO, W. Global Priority List of Antibiotic-resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics. World Health Organization 2017a.

WHO, W. The top 10 causes of death. v.Fact sheet n° 310, Disponible em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>.

WHO, W. H. O. *Salmonella* (non-typhoidal). v.Fact Sheet n° 139, Disponible em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>.

WIGLEY, P. *Salmonella enterica* serovar Gallinarum: addressing fundamental questions in bacteriology sixty years on from the 9R vaccine. **Avian Pathol**, 46, n. 2, p. 119-124, Apr 2017.

WINTER, S. E.; THIENNIMITR, P.; WINTER, M. G.; BUTLER, B. P. *et al.* Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for *Salmonella*. **Nature**, 467, n. 7314, p. 426-429, Sep 2010.

YANAGIHARA, S.; IYODA, S.; OHNISHI, K.; IINO, T. *et al.* Structure and transcriptional control of the flagellar master operon of *Salmonella typhimurium*. **Genes Genet Syst**, 74, n. 3, p. 105-111, Jun 1999.

YANG, G.; WANG, L.; WANG, Y.; LI, P. *et al.* *hfq* regulates acid tolerance and virulence by responding to acid stress in *Shigella flexneri*. **Res Microbiol**, 166, n. 6, p. 476-485, 2015 Jul-Aug 2015.

YANG, J.; TAUSCHEK, M.; ROBINS-BROWNE, R. M. Control of bacterial virulence by AraC-like regulators that respond to chemical signals. **Trends Microbiol**, 19, n. 3, p. 128-135, Mar 2011.

YASIR, M.; TURNER, A. K.; BASTKOWSKI, S.; BAKER, D. *et al.* TraDIS-Xpress: a high-resolution whole-genome assay identifies novel mechanisms of triclosan action and resistance. **Genome Res**, 30, n. 2, p. 239-249, 02 2020.

ZHANG, X. L.; TSUI, I. S.; YIP, C. M.; FUNG, A. W. *et al.* Salmonella enterica serovar typhi uses type IVB pili to enter human intestinal epithelial cells. **Infect Immun**, 68, n. 6, p. 3067-3073, Jun 2000.

ZHANG, X. S.; GARCÍA-CONTRERAS, R.; WOOD, T. K. Escherichia coli transcription factor YncC (McbR) regulates colanic acid and biofilm formation by repressing expression of periplasmic protein YbiM (McbA). **ISME J**, 2, n. 6, p. 615-631, Jun 2008.

ZHOU, A. Q.; O'HERN, C. S.; REGAN, L. Revisiting the Ramachandran plot from a new angle. **Protein Sci**, 20, n. 7, p. 1166-1171, Jul 2011.

ZHOU, D.; CHEN, L. M.; HERNANDEZ, L.; SHEARS, S. B. *et al.* A Salmonella inositol polyphosphatase acts in conjunction with other bacterial effectors to promote host cell actin cytoskeleton rearrangements and bacterial internalization. **Mol Microbiol**, 39, n. 2, p. 248-259, Jan 2001.