

## Daño y respuesta al estrés oxidativo en bacterias del género *Bacteroides*: resistencia a los antimicrobianos y mecanismos de virulencia

Carlos Quesada-Gómez

Laboratorio de Investigación en Bacteriología Anaerobia, Facultad de Microbiología, Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Universidad de Costa Rica, San Pedro, San José, Costa Rica

### RESUMEN

Algunas especies de bacterias, como *Escherichia coli*, poseen mecanismos de tolerancia a las sustancias reactivas derivadas del oxígeno (ROS). Uno de los principales productos del daño oxidativo al ADN en sistemas *in vivo* e *in vitro* es la formación de la 8-hidroxideoxiguanosina (8OHdG), la cual incluso se puede utilizar como un marcador biológico de dicho efecto. Al exponer a la bacteria *Prevotella* al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en una atmósfera libre de oxígeno, se encontraron niveles elevados de 8OHdG y con porcentajes de sobrevivencia de menos del 1%.

Se ha visto que en bacterias anaerobias de importancia clínica, principalmente las del género *Bacteroides*, el incremento de 8OHdG correlaciona con una baja en la tasa de supervivencia.

Se han identificado algunas estrategias de *B. fragilis* ante el estrés oxidativo; los genes implicados en los mecanismos de detoxificación de las ROS y de reparación del ADN son: *katB* (catalasa), *sod* (superóxido dismutasa), *ahpCF* (alquil-hidroperóxido reductasa) y *dps* (proteínas no específicas de unión al ADN).

En cepas de *B. thetaiotaomicron* *recA*<sup>-</sup> es mayor la sensibilidad al oxígeno comparada con la cepa silvestre y, además, disminuye la concentración del metronidazol; presentando más resistencia a uno de los antimicrobianos de elección contra infecciones por bacterias anaerobias.

El estrés oxidativo tiene un efecto significativo en el crecimiento de *Bacteroides*, pero existe una serie de genes llamados de respuesta al estrés oxidativo (OSR) que le permiten a este género poseer una aerotolerancia significativa y, por lo tanto, mayor capacidad de virulencia; por lo que puede establecer un proceso infeccioso anaerobio en el humano.

En este trabajo, se pretende resumir los mecanismos contra el daño oxidativo de las bacterias anaerobias del género *Bacteroides* y, además, correlacionar dichos eventos de protección con la virulencia de este anaerobio en infecciones humanas y su posible relación con la generación de resistencia a antimicrobianos como el metronidazol.

**Palabras clave:** Bacterias anaerobias, daño oxidativo, *Bacteroides*, antimicrobianos, virulencia

### ABSTRACT

**Damage and response to oxidative stress in anaerobic bacteria of the genus *Bacteroides*: antimicrobial resistance and virulence factors**

Some bacterial species such as *Escherichia coli* have tolerance features against oxygen reactive substance (ROS). One of the main products from oxidative damage to the DNA molecule in *in vivo* and *in vitro* is the 8-hydroxydeoxyguanosine (8OHdG), which could be used as a biological

**Solicitud de sobretiros:** Carlos Quesada-Gómez. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, 2060, San Pedro, San José, Costa Rica  
E-mail: carlos.quesada@ucr.ac.cr

**Recibido:** el 2 de agosto de 2008. **Aceptado para publicación:** el 18 de noviembre de 2008

Este artículo está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb081936.pdf>

marker as result of such effect. The exposure of *Prevotella* to  $H_2O_2$  in an atmosphere free of oxygen results in high levels of 8OHdG with a surviving rate of less than 1.0 %.

In anaerobic bacteria of clinical importance, mainly in those of the genus *Bacteroides* it has been observed that an increasing of the 8OHdG correlates with a lower surviving rate. Some of the responses to oxidative stress have been found in *B. fragilis* and the genes involved in ROS detoxification mechanism and DNA repair are *katB* (catalase), *sod* (superoxide dismutase), *ahpCF* (alkyl-hydroperoxide reductase) and *dps* (DNA unspecific binding proteins).

In *B. thetaiotaomicron recA* the sensitivity to oxygen is higher as compared with the wild type strain. It also shows higher resistance to metronidazol, one of the first choice antimicrobial used against anaerobic bacterial infections.

The oxidative stress has a negative effect on *Bacteroides* growth, however a group of genes known as oxidative stress response (OSR) allow this bacterial genus a significant aerotolerance, therefore, higher virulence ability as to cause infection in humans.

In this review, the mechanisms against the oxidative damage in the anaerobic bacterium *Bacteroides* are summarized. In addition, the protection events mentioned above are correlated with virulence of this anaerobe in human infections and with a possible relation with resistance to antimicrobials such as the metronidazol.

**Key words:** Anaerobic bacteria, oxidative damage, *Bacteroides*, antimicrobial agents, virulence factors

## INTRODUCCIÓN

Las células eucariotas de mamíferos son capaces de protegerse contra las sustancias reactivas derivadas del oxígeno (ROS) y poseen mecanismos de reparación del daño al ADN inducido por estas moléculas. Algunas especies de bacterias, como *Escherichia coli*, poseen

mecanismos similares de tolerancia a las ROS (1). Por otro lado, muchas de las bacterias anaerobias son muy sensibles al oxígeno molecular; sin embargo, en los últimos años se han analizado los mecanismos de reparación del ADN producidos por el daño oxidativo en bacterias anaerobias de importancia clínica humana.

Las bacterias anaerobias son microorganismos que crecen y se multiplican en ausencia de oxígeno molecular, al punto que incluso en muchos casos éste les es letal. Sin embargo, dentro de los anaerobios de importancia clínica humana existen diferentes niveles de tolerancia al oxígeno y, por lo tanto, distintos mecanismos de detoxificación de las ROS. Con esta revisión se pretende conseguir un resumen de los principales procesos de daño oxidativo y de respuesta a este estrés oxidativo en bacterias anaerobias de importancia clínica y, por último, establecer la importancia que poseen estos aspectos moleculares del oxígeno con la resistencia a algunos antimicrobianos como el metronidazol y los factores de virulencia que se han asociado con estos mecanismos en anaerobios.

## DAÑO OXIDATIVO AL ADN EN BACTERIAS ANAEROBIAS

Es conocido que uno de los principales productos del daño oxidativo al ADN en sistemas *in vivo* e *in vitro* es la formación de la 8-hidroxideoxiguanosina (8OHdG), la cual incluso se puede utilizar como un marcador biológico de dicho efecto (2).

En estudios realizados con *Prevotella melaninogenica* se ha observado que, si se incubaba en condiciones de aerobiosis, en cuestión de minutos aumentan considerablemente los niveles de 8OHdG y se obtienen porcentajes de sobrevivencia de menos del 10%. Además, se observó que este efecto de la elevación de los niveles de 8OHdG es dependiente del tiempo de incubación de la bacteria en presencia del oxígeno molecular.

Si al cultivo bacteriano se le añadía la enzima catalasa en concentraciones de 1000 U/ml, se detectaron concentraciones menores de 8OHdG,

## Estrés oxidativo en *Bacteroides*: mecanismos de virulencia

por lo que se tuvo un efecto detoxificante de las ROS. Sin embargo, no se notaba el mismo efecto si al cultivo de *Prevotella* se le agregaba la enzima superóxido dismutasa (300 U/ml) (2).

Por otro lado, la presencia de glucosa (en concentraciones de 5 mM) y de la enzima glucosa oxidasa (0.2 U/ml) en el medio de cultivo aumentaba significativamente los niveles detectables de 8OHdG y la co-adición de la enzima catalasa en este punto hacía decrecer nuevamente 8OHdG a niveles semejantes a los anteriores. La exposición de glucosa y glucosa oxidasa a las mismas condiciones de oxígeno, en ausencia de *Prevotella*, genera hasta niveles de 2.3 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante los procesos de incubación. Sin embargo, al exponer a *Bacteroides fragilis* a los mismos niveles de oxígeno no se encontraron niveles detectables de 8OHdG (2).

Al exponer a *Prevotella* al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en una atmósfera libre de oxígeno, se encontraron niveles mayores de 8OHdG y con porcentajes de sobrevivencia de menos del 1%. Además, no se encuentran niveles importantes de 8OHdG en *Bacteroides*, pero sí se observa que el nivel de supervivencia baja un poco, aproximadamente al 80%, bajo las mismas condiciones de incubación que *Prevotella*.

Así, se ha visto que en bacterias anaerobias el incremento de la presencia de 8OHdG correlaciona con la baja en la tasa de sobrevivencia; sin embargo, este efecto no se ha visto en todos los géneros anaerobios. Por ejemplo, el daño oxidativo en el ADN medido por la presencia de la oxidación de la guanina es un mecanismo importante en géneros como *Prevotella*, pero no así en *Bacteroides*. Probablemente el menor efecto en el daño oxidativo al ADN de *Bacteroides* se deba a la presencia de actividad de catalasa y esto se evidencia aún más con el hecho de que al agregar catalasa al medio con *Prevotella* la cantidad de 8OHdG detectable es menor (2).

Ésta es la primera evidencia de que la enzima catalasa en algunos anaerobios es una de las primeras líneas de defensa en contra del

daño oxidativo y las bacterias anaerobias que no poseen dichas enzimas detoxificantes son más susceptibles al daño por las ROS en la molécula de ADN (1).

Los mecanismos para evitar el daño oxidativo o de reparación por los efectos del mismo en el ADN son más estudiados e importantes en anaerobios aerotolerantes como el género *Bacteroides*.

Además, las especies del género *Bacteroides* son las principales bacterias de la microbiota endémica del tracto intestinal humano y es la bacteria más frecuentemente aislada en muestras clínicas.

### AEROTOLERANCIA COMO FACTOR DE VIRULENCIA EN ANAEROBIOS

Es bien sabido que uno de los principales factores de virulencia de *Bacteroides* es la extrema aerotolerancia que posee, en comparación con el resto de bacterias anaerobias de importancia clínica, la cual incluso le permite sobrevivir hasta 24 horas expuesta al oxígeno molecular. Ante esto, se considera que *Bacteroides* es de los anaerobios de importancia clínica más aerotolerante capaz de sobrevivir (no de multiplicarse) por 48 a 72 horas expuesto al oxígeno atmosférico (3).

Esta resistencia al daño oxidativo en una bacteria con metabolismo totalmente anaerobio todavía no está bien comprendida. Pero se vuelve interesante el estudio fisiológico y genético de la tolerancia al estrés oxidativo en el género *Bacteroides*, debido a que la aerotolerancia observada en este anaerobio se debe traducir necesariamente en finos procesos fisiológicos y genéticos de detoxificación de las ROS y de reparación de daños en la molécula del ADN.

### RESPUESTA AL ESTRÉS OXIDATIVO (OSR) EN *Bacteroides fragilis*

Han sido identificadas algunas estrategias de *B. fragilis* ante el estrés oxidativo; los genes que se han implicado en los mecanismos de detoxificación de las ROS y reparación del ADN son: *katB*

## Quesada-Gómez

(catalasa), *sod* (superóxido dismutasa), *ahpCF* (alquil-hidroperóxido reductasa) y *dps* (proteínas no específicas de unión al ADN). Estudios con mutantes *katB*, *dps* y *ahpCF* demuestran que juegan un rol importante durante la exposición al oxígeno, debido a que las mutantes en estos genes presentan daños oxidativos severos en toda la célula bacteriana e, incluso, en la molécula de ADN (2).

Las expresiones coordinadas de los genes OSR en *Bacteroides* están mediados por un regulador sensible a los cambios en el potencial redox; dicho regulador es un factor de transcripción llamado OxyR (1).

Además, los genes *katB*, *ahpCF* y *dps* se encuentran en el contexto de un regulón en donde se incrementa su expresión en presencia de OxyR. Este último responde a estímulos de un ambiente oxidado, inducido por la presencia de O<sub>2</sub> o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el medio alrededor de la célula bacteriana en cuestión (4).

En los últimos años, se han dilucidado mecanismos nuevos de OSR en *Bacteroides* y se han implicado con procesos de protección o reparación del daño oxidativo al ADN. Uno de éstos es la presencia de ribonucleótido reductasa aerobia (RRasa aerobia).

### RIBONUCLEÓTIDO REDUCTASA AEROBIA EN *Bacteroides fragilis*

Las RRasa aerobias son enzimas que catalizan la producción de desoxirribonucleótidos requeridos para la síntesis de ADN en todas las células vivas con metabolismos aerobios, pero la presencia de una enzima que actúa en condiciones aerobias en un organismo totalmente anaerobio es interesante desde un punto de vista fisiológico y genético. La RRasa aerobia en *Bacteroides* está codificada por los genes *nrdAB* que se encuentran en un operón cuya expresión se induce por medio de la presencia de O<sub>2</sub> (4).

NrdA, en un principio caracterizada en *Treponema pallidum*, es una RRasa particular clase Ia que funciona estrictamente bajo condiciones

aerobias, debido a que necesariamente utiliza el oxígeno molecular como parte de su mecanismo catalítico. Además, en *E. coli* la presencia de NrdAB RRasa es esencial para la replicación del ADN durante su crecimiento en condiciones aerobias (5); sin embargo, *B. fragilis* no se replica cuando está en presencia de oxígeno molecular, por lo que NrdAB debería tener otra función asociada con el ADN, pero no necesariamente la replicación.

Estudios genéticos en el locus *nrdA* han revelado dos marcos de lectura abiertos (ORF), los cuales están separados por 28 pb. El primer ORF está compuesto por 2520 pb y codifica una proteína relativamente grande (839 aminoácidos y 95.8 kDa) y el segundo ORF de 1050 pb codifica una proteína un poco más pequeña (41.3 kDa). Estas dos ORF en *Bacteroides* codifican, respectivamente, la subunidad grande (*nrdA*) y la pequeña (*nrdB*) de la RRasa aerobia clase Ia (4).

Esta evidencia se ha comprobado con el alineamiento de la secuencia peptídica en proteínas ortólogas de otras especies y en donde se evidencian dos regiones muy conservadas en la RRasa del tipo Ia que son: cinco residuos de cisteína en lugares específicos de la subunidad grande y un residuo tirosil que es el centro de la interacción con el oxígeno para la actividad catalítica de la enzima (5).

Para demostrar que los genes *nrdA* y *nrdB* codificarán por una RRasa funcional, estos genes fueron clonados en vectores de expresión de pET16b en *E. coli*, obteniéndose cepas pET16b:*nrdA* y pET16b:*nrdB* y se evaluó la actividad citidina 5'-difosfato reductasa (CDP). Se observó que dicha actividad fue muy reducida, a no ser que estuvieran pET16b:*nrdA* y pET16b:*nrdB* juntos en un mismo extracto (4).

Por otro lado, las moléculas de hidroxiruera inhiben las enzimas clase I pero no así las RRasas clase III. Dicho mecanismo de inhibición de la generación de radicales libres a partir del oxígeno ocurre en el sitio tirosil de la subunidad



## Estrés oxidativo en *Bacteroides*: mecanismos de virulencia

pequeña de las enzimas clase I; en contraste, la interacción con el oxígeno es producida por la S-adenosilcobalamina y, por lo tanto, es resistente a la hidroxurea. Todo lo anterior concuerda con la presencia de la hidroxurea y el decremento considerable de la actividad CDP reductasa, lo cual es consistente con la presencia del residuo conservado de tirosina en el péptido primario de la subunidad NrdB de *B. fragilis*.

La expresión de *nrdAB* en *B. fragilis* se induce rápidamente después del estrés oxidativo (1 a 2 horas), pero nunca se detectan niveles enzimáticos considerables durante condiciones anaerobias.

NrdAB podría funcionar para mantener el "pool" de desoxinucleósidos trifosfato en las células inmediatamente después de un estrés oxidativo. En principio, se pensaría que, al igual que en *E. coli*, las RRasas clase I funcionarían para contribuir con la replicación del ADN en condiciones aerobias; sin embargo, en *B. fragilis* al realizar una curva de crecimiento después de la exposición al oxígeno, una mutante *nrdA*- y una cepa silvestre control no presentan diferencia significativa en el crecimiento y ambas presentan inhibición de la replicación del ADN por el estrés oxidativo (4).

Durante una exposición prolongada al oxígeno, un anaerobio aerotolerante necesita reparar los posibles daños oxidativos a su molécula de ADN; por lo que, por último, se propone que NrdAB le permite a *Bacteroides* mantener un "pool" de desoxirribonucleótidos para abastecer a los mecanismos de reparación del ADN y así mantener la integridad del cromosoma mientras pasa el estrés oxidativo al que está sometido; obviamente, si este estrés se prolonga por mucho tiempo la bacteria entrará en muerte celular. Anaerobios que no poseen la RRasa aerobia tipo I tendrán mecanismos menos eficientes de reparación del daño al ADN en condiciones aerobias y menos capacidad de iniciar rápidamente la replicación del cromosoma después del estrés oxidativo.

## ANTIMICROBIANOS Y DAÑO OXIDATIVO AL ADN EN *Bacteroides*

Una de las drogas de elección en el tratamiento de infecciones por *B. fragilis* es el metronidazol (6). Este antimicrobiano ingresa en forma de prodroga inactiva a la célula bacteriana y es activado intracelularmente mediante una reducción del grupo nitro, con lo cual induce alteraciones en el ADN y ruptura de la doble hélice (7).

Los mecanismos de resistencia descritos en *Bacteroides* son: el eflujo activo de la droga (8), la presencia de genes *nim* que codifican las nitrorreductasas que inactivan la droga (9) y la alteración del flujo de electrones mediante la modulación del metabolismo de piruvato (10).

Por otro lado, se ha observado que incrementos en la expresión de proteínas vinculadas con la reparación en el daño al ADN se traducen en aumentos a la resistencia contra esta droga. Por ejemplo, la sobreexpresión de *recA* lleva a una mayor resistencia al metronidazol (11). Mutantes de *B. thetaiotamicron recA*- poseen una mayor sensibilidad al metronidazol que las cepas silvestres (12).

Por otro lado, en la búsqueda de nuevos reguladores de la reparación del daño al ADN se ha investigado el gen *reg* en *Bacteroides*, el cual codifica una proteína probablemente de 154 aminoácidos y una masa de 18.1 kDa. Ésta tendría una secuencia similar a los miembros de la familia de reguladores transcripcionales AraC/XylS (13). Estos reguladores, junto con la proteína del gen *reg*, poseen una región conservada de unos 100 residuos de aminoácidos que constituyen el dominio de unión al ADN (14).

La identificación de estos reguladores en bacterias anaerobias es importante debido a que están ligados con la reparación del ADN, como factores de virulencia, sistemas de multirresistencia y en respuesta a agentes alquilantes (15). En *E. coli* las proteínas de la familia AraC/Xyls vinculadas con multirresistencia mejor caracterizadas son MarA y Rob (14).

Las mutantes *B. fragilis reg-* crecen más lentamente que la cepa silvestre control, lo que plantea que la proteína Reg está relacionada con el crecimiento de esta bacteria anaerobia. Además, los mutantes *reg* fueron significativamente más susceptibles al metronidazol y a la mitomicina C que la misma cepa control (13), lo cual indica el papel importante de la proteína Reg en la protección de las células bacterianas anaerobias de *B. fragilis* contra agentes que dañan el ADN.

#### SISTEMA RecA EN *Bacteroides* Y RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

Los genes *recA* han sido descritos en el género *Bacteroides* y se han realizado estudios con mutantes para determinar la participación de RecA en eventos de recombinación y en la tolerancia al oxígeno en estas bacterias anaerobias. Ya se ha comentado que, en cepas de *B. thetaiotaomicron recA-*, se incrementa la sensibilidad al oxígeno y disminuye la concentración del metronidazol a la que son tolerantes, en comparación con la cepa silvestre (12).

Al ser expuestas al aire las cepas silvestres logran sobrevivir por varios días; sin embargo, las cepas *recA-* mueren al poco tiempo de ser expuestas al oxígeno. Éstas y otras observaciones realizadas sugieren que las sustancias reactivas derivadas del oxígeno, producidas durante la exposición de los anaerobios, producen daño en la molécula de ADN, igual que como se ha descrito para otros microorganismos como *E. coli*. En la reparación del daño producido al ADN (de origen oxidativo en el caso específico de *Bacteroides*) participa activamente RecA (12).

El anión superóxido está implicado en la producción de daño al ADN por varios mecanismos (16). La superóxido dismutasa (SOD) es esencial en el género *Bacteroides* para disminuir la cantidad de superóxido en la célula bacteriana; sin embargo, la actividad de la SOD en cepas *recA-* y en la cepa silvestre no presenta diferencia significativa. Probablemente, la ausencia de RecA en *Bacteroides* no afecte los niveles de actividad de

la SOD, por lo que en este anaerobio la protección al ADN por daño oxidativo no recae únicamente en SOD y la presencia de RecA es esencial (12). Además, lo termina de comprobar la baja en la tolerancia a la presencia de metronidazol en cepas *recA-* del género *Bacteroides*.

#### CONCLUSIONES

El estrés oxidativo tiene un efecto significativo en el crecimiento de *Bacteroides*, pero existe una serie de genes llamados de respuesta al estrés oxidativo (OSR) que le permiten a este género poseer una aerotolerancia significativa. Uno de los genes inducidos por el estrés oxidativo en *Bacteroides* son genes que están involucrados con vías metabólicas que pueden llegar a ser necesarias en estas condiciones de oxidación: aspartato descarboxilasa, *osu* de utilización del almidón, entre otras.

Por otro lado, están los genes más directamente relacionados con evitar y reparar el daño oxidativo al ADN. Están dados, como se mencionó anteriormente, por el operón *nrdAB* que codifica RRasas aerobias de la clase I, las cuales son enzimas estrictamente aerobias. Estas RRasas se encargan de mantener un "pool" de ribonucleótidos para abastecer a otros mecanismos de reparación en el ADN, como por ejemplo por medio de RecA (4). Además, se expresan proteínas Dps y RbpA que se unen al ADN y ARN, respectivamente; por lo que se propone que posiblemente participan para evitar o amortiguar el daño oxidativo al ADN, ya que por lo menos en *Bacteroides* no se conoce su mecanismo específico (1,3).

Por último, a pesar de que todos estos mecanismos para evitar el daño oxidativo en *Bacteroides* son eventos fisiológicos naturales de estos microorganismos, es interesante analizar cómo los mecanismos de reparación por el daño oxidativo en el ADN difieren de los de las bacterias aerobias; además que en un contexto determinado, estos mismos eventos podrían llegar a estar vinculados con los mecanismos de virulencia y de resistencia a los antimicrobianos como el metronidazol.

Estrés oxidativo en *Bacteroides*: mecanismos de virulencia

## REFERENCIAS

1. **Rocha E, Selby T, Coleman J, Smith, J.** Oxidative stress response in an anaerobe, *Bacteroides fragilis*: a role for catalase in protection against hydrogen peroxide. *J Bacteriol* 1996; 178:6895–03.
2. **Takeuchi T, Nakaya Y, Kato N, Watanabe K, Morimoto K.** Induction of oxidative DNA damage in anaerobes. *FEBS Letters* 1999; 450:178–80.
3. **Rocha E, Herren C, Smalley D, Smith J.** The complex oxidative stress response of *Bacteroides fragilis*: the role of OxyR in control of gene expression. *Anaerobe* 2003; 9:165–73.
4. **Smalley D, Rocha E, Smith J.** Aerobic-type ribonucleotide reductase in the anaerobe *Bacteroides fragilis*. *J Bacteriol* 2002;184(4):895–903.
5. **Jordan A, Reichard P.** Ribonucleotide reductases. *Annu Rev Biochem* 2002; 67:71–98.
6. **Falagas M, Siakavellas E.** *Bacteroides*, *Prevotella* and *Porphyromonas* species. A review of antibiotic resistance and therapeutic options. *Int J Antimicrob Ag* 2000; 15:1–9.
7. **Edwards D.** Nitrimidazole drugs – action and resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemoth* 1993; 31:201–10.
8. **Pumbwe L., Glass D., Wexler H.** Efflux pump over-expression in multiple-antibiotic-resistant mutants of *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob Agent Ch* 2006; 50:3150–53.
9. **Lofmark S, Fang H, Hedberg M, Edlund C.** Inducible metronidazole resistance and *nim* genes in clinical *Bacteroides fragilis* group isolates. *Antimicrob Agent Ch* 2005; 49:1253–56.
10. **Diniz C, Farias F, Carvalho M, Rocha E, Smith J.** Differential gene expression in a *Bacteroides fragilis* metronidazol-resistant mutant. *J Antimicrob Chemoth* 2004; 54:100–08.
11. **Chang K-C, Ho S-W, Yang J-C, Wang J-T.** Isolation of the genetic locus associated with metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Biochem Bioph Res Co* 1997; 236:785–88.
12. **Cooper A, Kalinowski A, Shoemaker N, Salyers A.** Construction and characterization of *Bacteroides thetaiotaomicron recA* mutant: transfer of *Bacteroides* integrated conjugative elements in RecA independent. *J Bacteriol* 1997; 179:6221–27.
13. **Gallegos M, Scheifl R, Bairoch A, Hoffman K, Ramos J.** AraC/XlyS family of transcriptional regulators. *Microbiol Mol Biol R* 1997; 61:393–410.
14. **Tanaka T, Horii T, Shibayama K.** RobA-induced multiple antibiotic resistance largely depends on the activation of the AcrAB efflux. *Microbiol Immunol* 1997; 41:697–702.
15. **Casanueva A, Paul L, Patrick S, Abratt V.** An AraC/XylsS family transcriptional regulator homologue from *Bacteroides fragilis* is associated with cell survival following DNA damage. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 278:249–56.
16. **Keyer K, Gort A, Imlay J.** Superoxide and the production of oxidative DNA damage. *J Bacteriol* 1995; 177:6782–90.