

M2 Infectiologie Cellulaire et Moléculaire, Vaccinologie, Anticorps Thérapeutiques

LALMANACH A-C, UMR ISP, INRA Centre de Recherche Val de Loire, Nouzilly

Module 5 Réponse mucosale aux salmonelles, entérobactéries pathogènes

- Salmonellose
- Premier contact de *Salmonella* avec l'épithélium intestinal
 - Etapes initiales
 - Expression muqueuse des chimiokines
 - Les phagocytes
- Réponse défensive
- Réponse cytokine: rôle majeur de l'IFN- γ

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Deux formes de salmonellose : selon le sérotype de *Salmonella*

- Infections gastriques et entériques

2 sérotypes ubiquistes majoritaires

(plus des deux tiers des souches répertoriées)

S. Enteritidis

S. Typhimurium

Environ 70% des toxi-infections alimentaires collectives

- Infections systémiques

particularité des sérotypes à spécificité d'hôte

ex : S. Typhi : fièvres typhoïdes chez l'homme

S. Abortusovis : fièvre et avortements des brebis

S. Gallinarum: typhoïde des volailles

S. Typhimurium : typhoïde de la souris

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

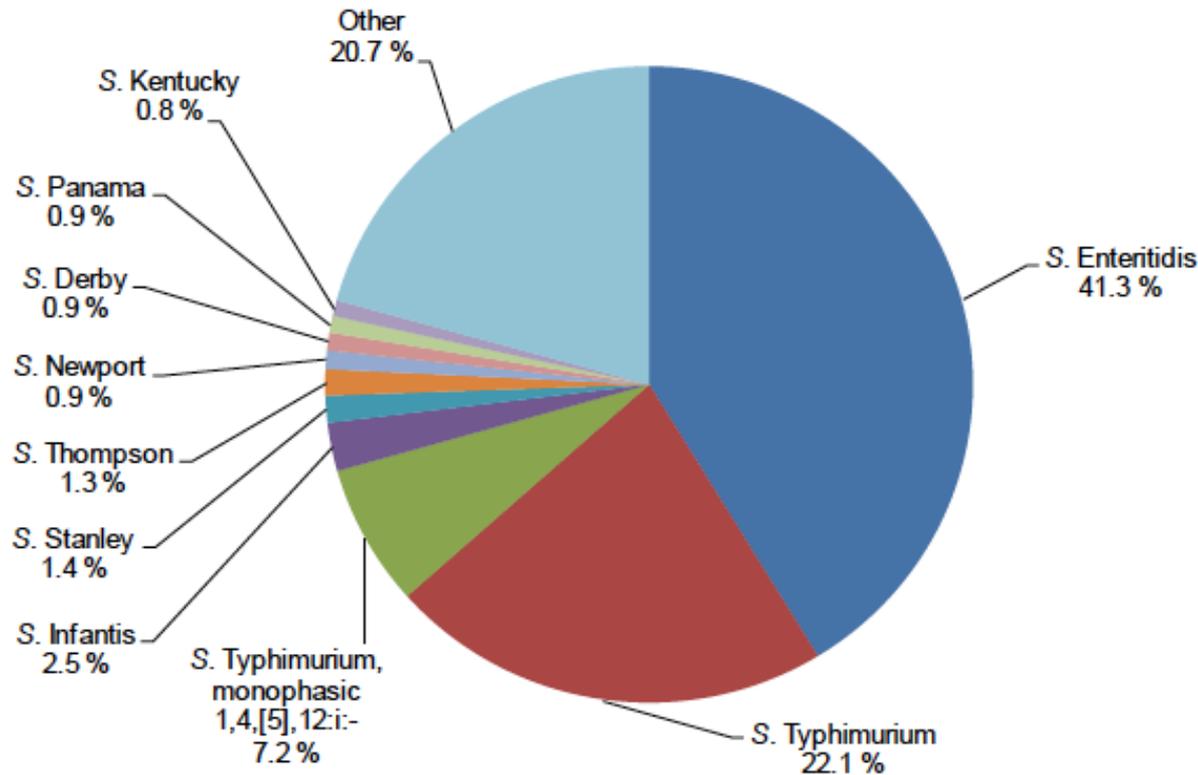
La salmonellose, un problème d'importance en santé publique et vétérinaire:

- *Salmonella*: entérobactérie Gram - , plus de 2500 sérovars spécifiques d'hôtes (Typhi, Gallinarum, Abortusovis...) ubiquistes (Enteritidis, Typhimurium,...)
- Salmonellose = deuxième zoonose (derrière campylobacteriose) en nombre de cas confirmés par an en Europe (91 034 cas rapportés dans les 27 EM en 2012, source EFSA Journal 2014;12(2):3547)
- Première cause de toxi-infection alimentaire collective en Europe

La salmonellose, un problème d'importance en santé publique et vétérinaire:

- Plus des deux tiers des sérovars isolés de cas humains en Europe: *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium

Figure SA3. Distribution of the 10 most common *Salmonella* serovars in humans in the EU, 2012 (N = 82,409)



Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

La salmonellose, un problème d'importance en santé publique et vétérinaire:

- Liée à la consommation d'aliments contaminés, issus des productions animales
- Aliments incriminés dans les infections alimentaires collectives européennes en 2012

OÙufs et produits à base d'œufs
22%

Viandes et charcuteries (porc, volaille, bœuf, autres)
20,2%

Poissons et produits dérivés
9,2%

Fromage
5,4%

Fruits et légumes, jus
5,4%

Coquillages et crustacés
4,6%

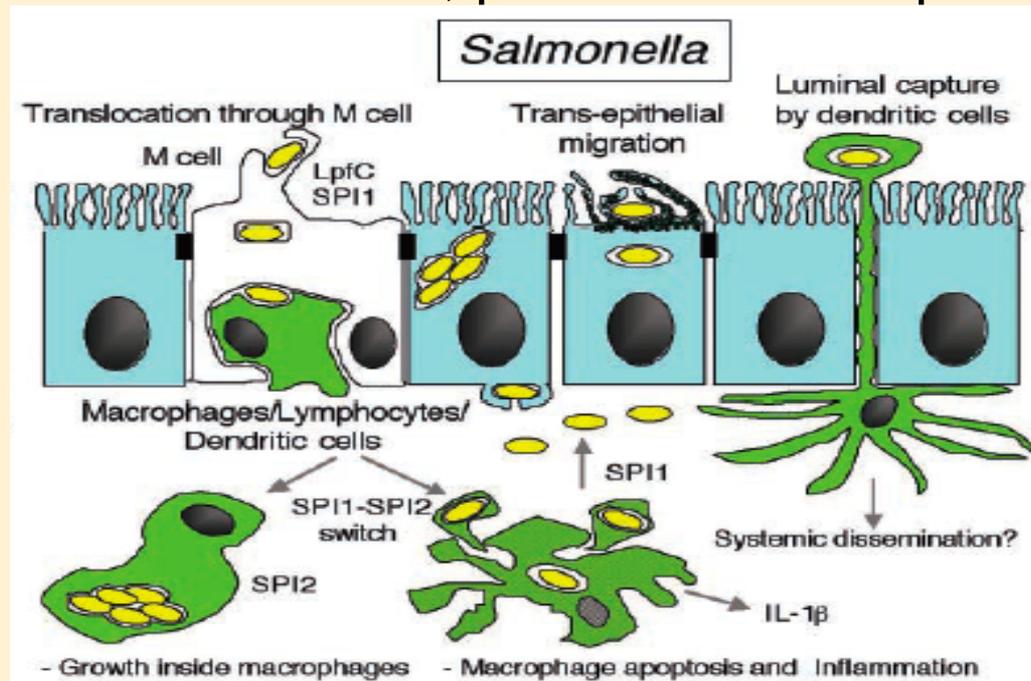
Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Premier contact de *Salmonella* avec l'épithélium intestinal: étapes initiales.

- Prise en charge directe possible par les cellules dendritiques projetant des dendrites qui expriment des composants de jonction serrées *.



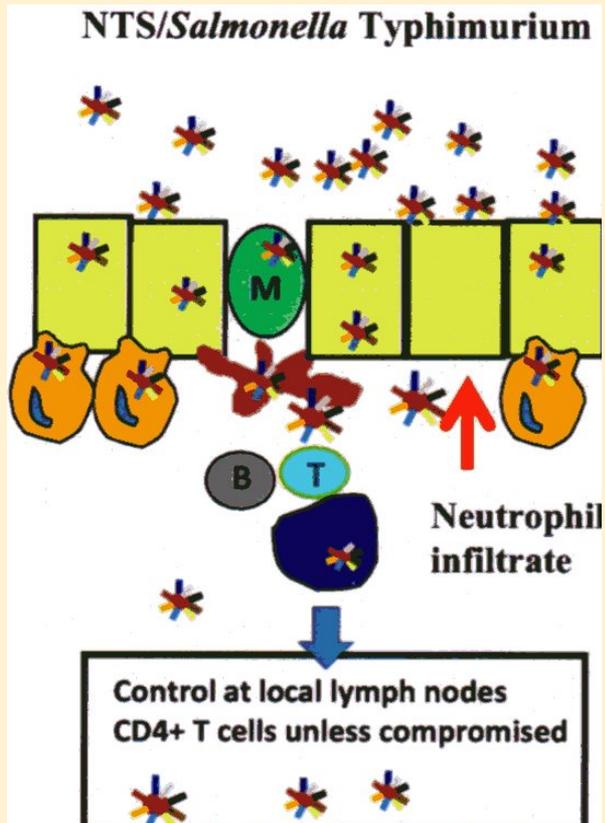
- Entrée active par les cellules M, par les cellules épithéliales.



Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Premier contact de *Salmonella* avec l'épithélium intestinal: étapes initiales.

NTS: Non typhoid salmonellosis



Dans l'épithélium:
Invasion = entrée active

Dans la lamina propria:
prise en charge par les
phagocytes

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Premier contact de *Salmonella* avec l'épithélium intestinal: étapes initiales.

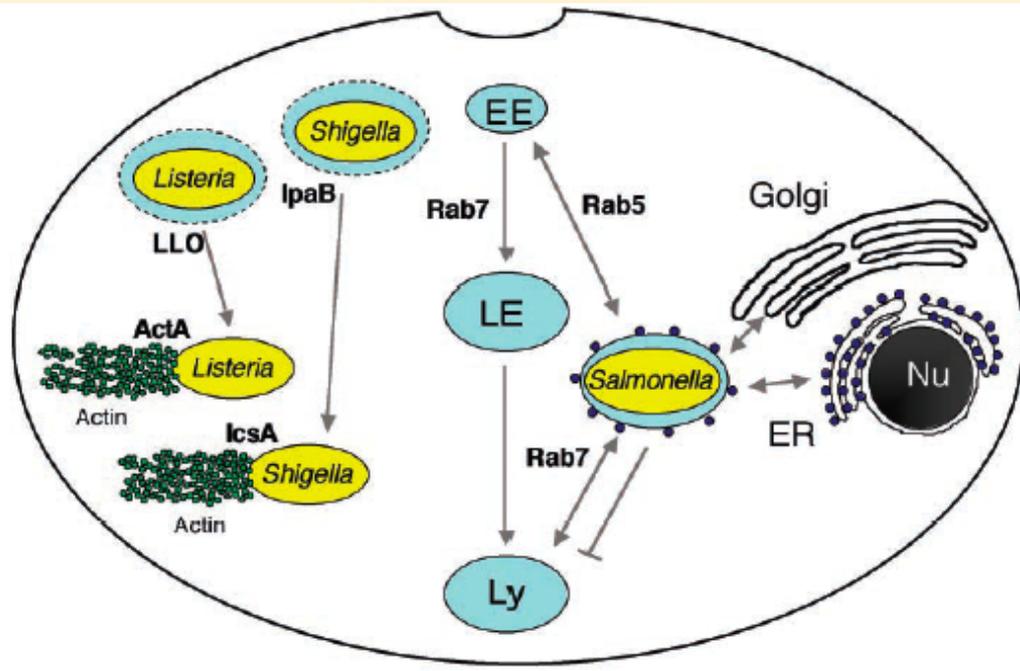
Remaniements induits à la surface des cellules épithéliales pour favoriser l'internalisation: triggering process

- ➔ Interaction initiée par l'adhésion (fimbriae de *Salmonella*)
- ➔ Intervention du système de sécrétion de type III (TTSS, codé par SPI1, îlot chromosomique): SipB + SipC (« seringue »), SopE injecté active GTPases, polymérisation d'actine stabilisée par SipA, régulation négative par SptP
- ➔ Induction de changements massifs du cytosquelette, formation de lamellipodes et internalisation

Remarques: *Shigella* suit un processus analogue alors que *Listeria* et *Yersinia* suivent un « zippering process » (enfouissement dans une région membranaire d'interaction). *Salmonella* dépourvue de TTSS est capable de pénétrer par « zippering process ».

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction de *Salmonella* avec l'épithélium intestinal: schéma comparatif par rapport à *Listeria* et *Shigella*



Une fois internalisés, les différents types bactériens n'ont pas le même comportement intracellulaire:

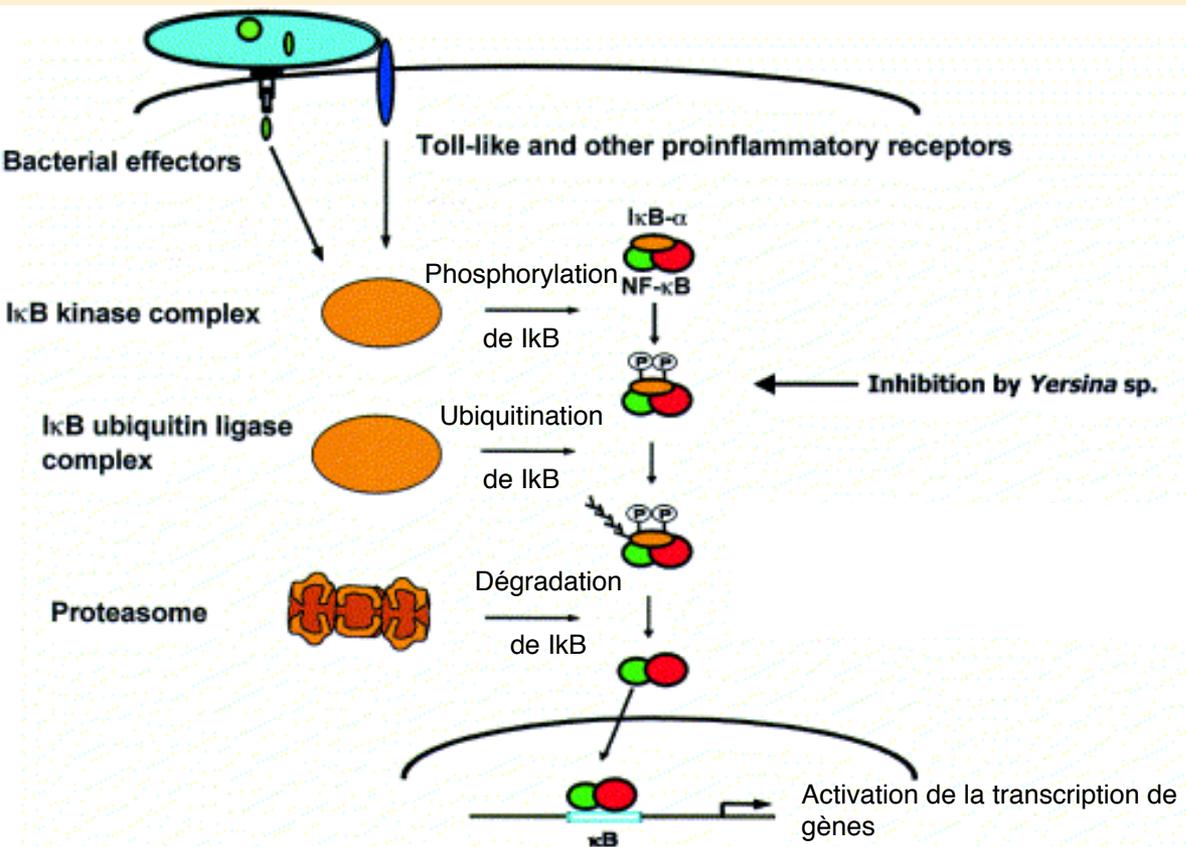
Shigella détruit sa vacuole, passe dans le cytoplasme, fixe l'actine pour se mouvoir dans la cellule et de proche en proche (comme *Listeria*).

Salmonella reste dans la vacuole en bloquant sa fusion avec le lysosome (via Rab5 et 7) et y survit grâce à implication de gènes codés par SPI2, voire s'y multiplie. Elle peut être relarguée côté basolatéral.

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction de *Salmonella* avec l'épithélium intestinal: « sensors » épithéiliaux de la présence de pathogène

Sensibilisation intracellulaire par les récepteurs cytosoliques Nod1 et Nod2 des peptidoglycanes bactériens et par TLR4 intracellulaire qui reconnaît le LPS.



Activation de la voie NF-κB inducteur de transcription des gènes de la réponse inflammatoire.



Production de chimiokines attirant les cellules immunitaires

Interaction de *Salmonella* avec l'épithélium intestinal: Expression muqueuse de facteurs immunitaires

Production de chemokines attirant les cellules immunitaires

Observation immunohistologique:

- Infiltration de leucocytes dans la lamina propria du tissu intestinal infecté par *Salmonella*
- Sécrétion locale de chimiokines
 - IL8 (CXCL8): attirant les neutrophiles
 - MCP-1 (CCL2): attirant les monocytes
 - MIP-1 α (CCL3): attirant neutrophiles et macrophages



Les phagocytes sont appelés à intervenir

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction de *Salmonella* avec l'épithélium intestinal: Expression muqueuse de facteurs immunitaires

Production de chemokines attirant les cellules immunitaires

Les bactéries qui passent côté basolatéral de l'épithélium:

Flagelline ↔ TLR5 →
NF-κB prod. IL-8 → Infiltration de neutrophiles*

Phagocytose et action bactéricide majeure (défensines...)

Flagelline ↔ TLR5 →
NF-κB prod. CCL20 (MIP3α) → Recrutement de cellules dendritiques immatures**

Migration vers la zone lymphoïde proche, présentation aux cellules T effectrices muqueuses...

* Reed KA. et al., J. Biol. Chem. 2002, 277(15): 13346-53.12

** Sierro et al., Proc. Natl., Acad. Sci. USA 2001, 98(24): 13722-7.

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction hôte - *Salmonella*: devenir des bactéries

- Après multiplication et transmigration épithéliale, *Salmonella* est prise en charge par les macrophages ou les cellules dendritiques.
- Survie dans les macrophages non activés (prévention du recrutement de la NADPH oxydase: blocage de la « flambée oxydative »; rôle de SPI2).
- Induction de l'apoptose des macrophages (via SipB activant caspase1) et/ou de leur réponse inflammatoire (IL-1).

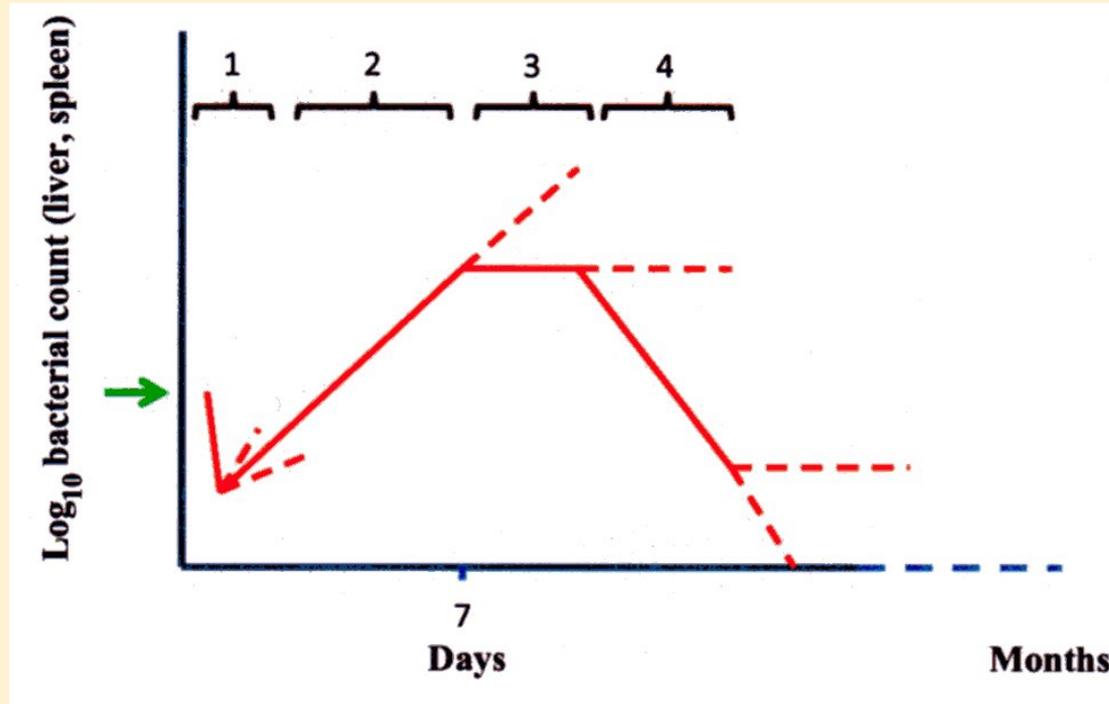
Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction hôte - *Salmonella*: devenir des bactéries

- *Salmonella* présente un tropisme pour le tissu lymphoïde intestinal.
- *Salmonella* se retrouve dans les plaques de Peyer, 6h post infection per os.
- *Salmonella* se retrouve dans les ganglions mésentériques (24-48h p.i.) puis dans la rate et le foie.

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction hôte - *Salmonella*: phase d'infection systémique après inoculation voie orale chez la souris



- 1: Réduction de l'inoculum
- 2: Multiplication bactérienne
- 3: Phase plateau
- 4: Clairance bactérienne

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction hôte - *Salmonella*: devenir des bactéries

- Prise en charge directe possible des corps apoptotiques (issus de macrophages infectés) par les cellules dendritiques avoisinantes *.
- Dissémination extra intestinale des salmonelles au sein des phagocytes/DC CD18+** selon le sérotype.
- *Salmonella* ne se multiplie pas dans les DC alors qu'elle peut se nicher et se multiplier dans les macrophages.



Les phagocytes peuvent servir de véhicule

* Yrlid and Wick, J. Exp. Med. 2000, 191:613-624₁₆

**Vazquez-Torres A. et al., Nature 1999, 401: 804-808.

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction hôte - *Salmonella*: devenir des bactéries

Les cellules dendritiques DC: une porte d'entrée alternative/ une voie pour stimuler l'immunité adaptative

Les macrophages: une niche durant l'infection systémique et la persistance / une voie d'élimination s'ils sont activés par IFN- γ

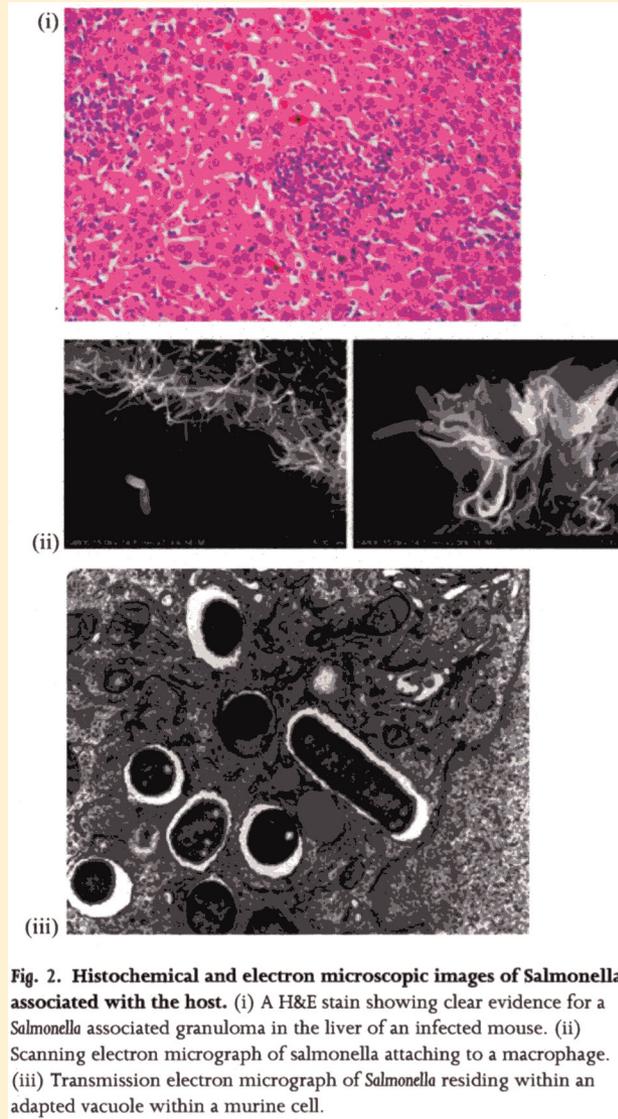
Les neutrophiles: une bonne arme contre les bactéries extracellulaires, production de défensines...



Les phagocytes sont au cœur du combat

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Interaction hôte - *Salmonella*: devenir des bactéries



Foie infecté: coloration H & E
Aspect de granulomes chargés
de bactéries

Macrophage infecté:
microscopie electronique à
balayage. Salmonelle attachée.

Cellule murine infectée:
microscopie electronique à
transmission. Salmonelles intra-
vacuole.

**Les phagocytes
au cœur du combat**

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Réponse défensive

Rôle des défensines dans la résistance muqueuse aux entéropathogènes

- FliC (protéine du flagelle) de *Salmonella* Enteritidis induit l'expression de HBD2 dans les cellules épithéliales Caco-2
- Les souris KO sur le gène de la matrilysine MMP7
 - ➔ Sensibles aux infections létales par *Salmonella* Typhimurium
 - ➔ Moins efficaces dans la clairance des entéropathogènes
- Les souris transgéniques pour le gène de l' α -défensine humaine HD5
 - ➔ Résistantes aux effets entéropathogènes de *Salmonella* Typhimurium

Stratégies d'échappement des salmonelles aux défensines

- *Salmonella* Typhimurium: acylation du lipide A, modification avec l' aminoarabinose.
- *Salmonella* Typhimurium: régulation négative de l'expression des α -défensines et du lysozyme (dépendant du régulateur de virulence PhoP).

Stratégies de survie et dissémination des salmonelles

Vivons heureux, vivons cachés: rester invisible des facteurs anti-bactériens

- Persistance intra macrophages dans les phagosomes: inhibition de la fusion avec le lysosome.
- Dissémination probable via les phagocytes circulants: macrophages (M Φ), cellules dendritiques (DC).

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Dissémination des salmonelles

Multiplication bactérienne qui ne reste pas invisible

Les cellules des organes lymphoïdes 2res se réveillent

- Diminution de la population NK (NK1.1+, TCR $\alpha\beta$ -).
 - Diminution de la population NKT (NK1.1+, TCR $\alpha\beta$ +).
 - Diminution des populations cellulaires T (TCR $\alpha\beta$ +, NK1.1-).
- Dans la rate, 2 jours après infection voie orale (souris)
- Dans la rate, 5 jours après infection voie orale (souris)

→ Activation, migration possible vers les sites effecteurs muqueux

→ Production d'IFN- γ

Réponse mucoale aux entérobactéries pathogènes

Expression muqueuse de facteurs immunitaires

Récepteurs épithéiaux vis-à-vis des cellules immunitaires

ICAM1: constitutif et « up-régulé » par *Salmonella*

↔ LFA1 des leucocytes

LFA3: constitutif et « up-régulé » au niveau de l'épithélium

↔ CD2 des lymphocytes T
(costimulation des IEL)

gp180 ↔ CD8

CD1, CD1d: Présentation d'antigènes lipidiques bactériens
(mycobactéries)

➔ **Faciliter l'activation des lymphocytes avoisinants**

Réponse muqueuse aux entérobactéries pathogènes

Expression muqueuse de facteurs immunitaires

Cytokines activant les cellules immunitaires

IL1	}	Inflammatoires, stimulation des phagocytes et lymphocytes
TNF-a		
TGFb	}	Switch de classe, favorise la production d 'IgA -> meilleure captation bact-IgA/cellules M...
IL6		

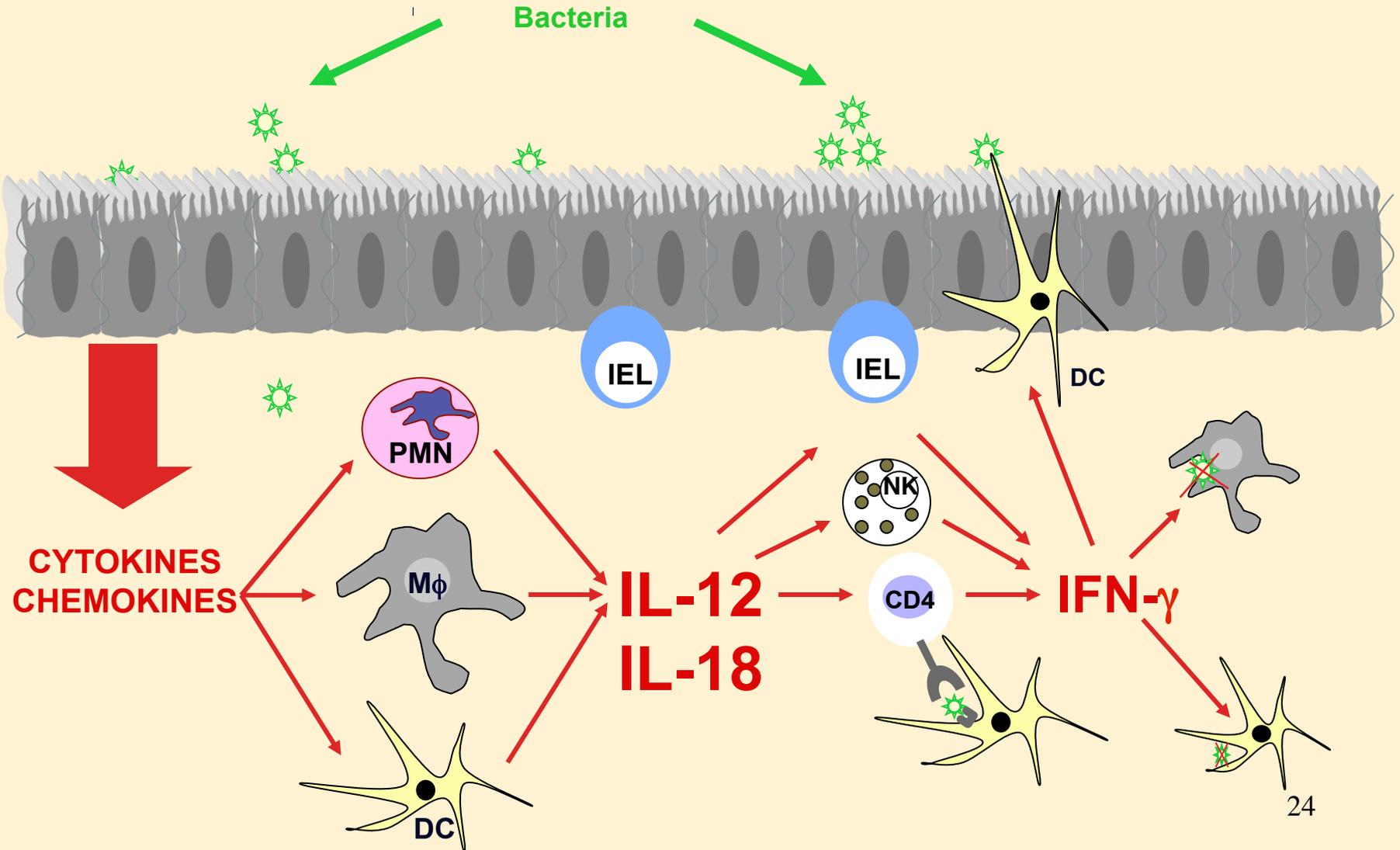
Récepteurs de cytokines augmentant l 'interaction IEC-lymphocytes (via lymphokines)

IL2R, IL4R

IFN-gR Augmentation de l 'expression de CMHII et de ICAM1
Présentation d 'antigène aux lymphocytes T

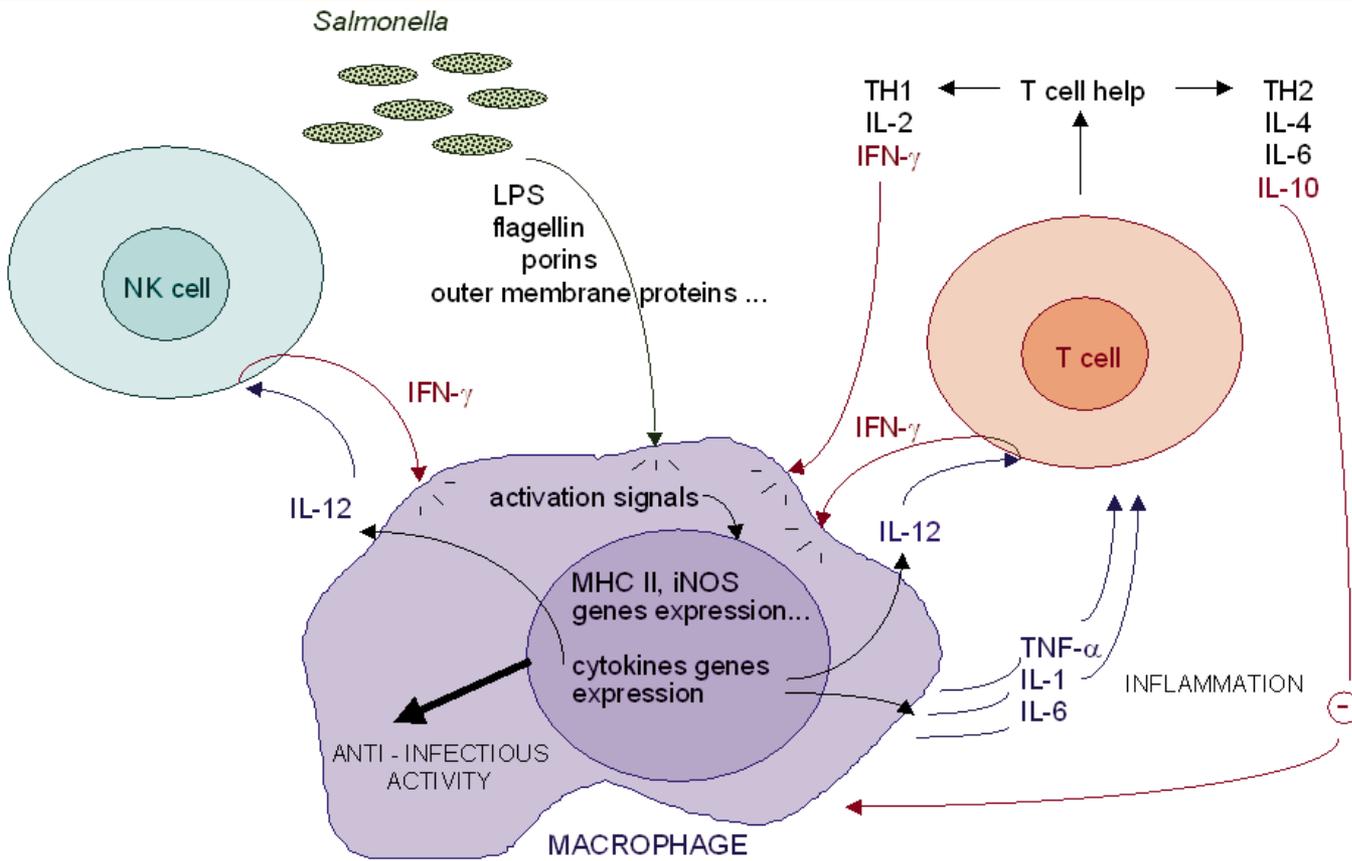
Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Exemple de l'interaction avec *Salmonella*: l'issue de l'infection est sous la dépendance de l'IFN- γ



Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Exemple de l'interaction avec *Salmonella*: l'issue de l'infection est sous la dépendance de l'IFN- γ



L'activité microbicide des macrophages est induite par l'interféron gamma:

- Activité NRAMP1*
- Production de NO

La quantité de bactéries dans les tissus est proportionnelle au nombre de phagocytes infectés

Attention: l'interféron gamma peut avoir des effets néfastes sur l'intégrité de l'épithélium intestinal. Régulation négative indispensable par IL-10 et/ou TGF β

* Jabado N. et al., J. Exp. Med. 2000, 192: 1237-1248.

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Exemple de l'interaction avec *Salmonella*: l'issue de l'infection est sous la dépendance de l'IFN-g

Chez la souris KO sur le gène de l'interféron-gamma (IFN γ ^{-/-}) et inoculées oralement par une souche atténuée de *Salmonella* *

- Pas de résolution de l'infection mais septicémie en 2 semaines
- Pas d'augmentation de l'expression du CMHII et de VCAM1
- Pas d'augmentation des populations T CD4+ et CD8+



Déficiences de l'immunité intestinale et systémique

Réponse mucosale aux entérobactéries pathogènes

Les DC et macrophages peuvent se faire aider : amplifier la réponse antimicrobienne à *Salmonella* selon l'axe IL-23 - Th17

