

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation



Immunbiologie der Salmonellen- Infektion beim Huhn

Rautenschlein, S.

Klinik für Geflügel, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

6. Dresdner-Kolloquium

Übersicht

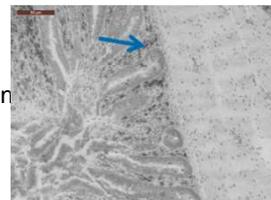
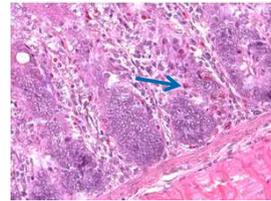


- Allgemeine Einleitung zur Darmimmunität
- Eigenschaften von Salmonellen
- *Salmonelle enterica* ssp. *enterica* Serovar Enteritidis und Typhimurium
- Pullorumkrankheit und Hühnertyphus
- Zusammenfassung

Infektionen an der Oberfläche Darmepithel



1. Kommensale oder Pathogen?
 1. Pattern Recognition Rezeptoren (TLR, NOD-like Rezeptoren u.a.)
 1. Immunzellen
 2. Epitheliale Zellen
 3. Stroma Zellen
2. Rekrutierung von Heterophilen (frühe Phase)
 1. Abtöten von Pathogenen
 2. Rekrutierung anderer Immunzellen
3. Einbindung von NK-Zellen, Makrophagen, TCR γ T-Zellen
4. TCR $\alpha\beta$ -Zellen, B-Zellen (spätere Phase)
 1. Lamina Propria, IEC
 2. Kontrolle der Infektion



Immunantwort \neq Effektivität und Kontrolle der Infektion!

08.06.2016

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

3

Entwicklung des darmassoziierten Immunsystems



Jung \neq Alt!

- Schwache Immunantwort von Jungtieren
 - Beispiel: Empfänglichkeit von Küken < 3 LT für systemische SE und ST-Infektion mit hoher Mortalität
- Schnelle Entwicklung bis um die 4.-6. LW beim Huhn
- Clearance von S. abhängig vom Alter
- Antikörperentwicklung und T-Zellimmunität
 - Schwach bei Jungtieren
 - Unzureichende Protektion
 - Genetischer Einfluss bis ca. 6 LW
- Boosterantwort
 - Homing von Immunzellen aus der Milz
 - Schnellere Clearance from Darm

Beal et al. (2004) Vet. immunol. Immunopathology

08.06.2016

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

4



Salmonellen bei Geflügel

- ca. 2.500 antigenetische Varianten innerhalb des Genus *Salmonella* (Serovare) –
 - Spezies: *Salmonella enterica*
- 3 Kategorien:
 - ➔ 1. beweglich: nicht-wirtsspezifisch
 - Paratyphus - **selten akut, systemisch** – Jungtiere
 - *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium*
 - ➔ 2. Nicht beweglich: wirtsspezifisch (aviäre Spezies)
 - *S. Pullorum* (Pullorum Krankheit) - **akut, systemisch** - Jungtiere
 - *S. Gallinarum* (Fowl Typhoid) - **akut- chron. septik.** – ältere Tiere
 - ➔ 3. beweglich: nicht-wirtsspezifisch
 - *S. enterica arizonae* - **akut, septikämisch** – junge Puten

08.06.2016

 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
 University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

5

Beispiele für das Immunsystem wichtige Eigenschaften/Virulenzfaktoren von Salmonellen



- Adhärenzfaktoren
 - Flagellen:
 - + SE, ST – Erkennung durch TLRs (5)
 - - SG, SP – fehlende TLR-Erkennung
 - Fimbrien
- Pathogenitätsinsel 1 und 2 Typ III Sekretionssystem (SG, SP)
 - Inhibition der antimikrobiellen Aktivität
 - Verhinderung der Fusion von Lysosomen mit phagozytischen Vakuolen
 - Modulation der MHC und Zytokin-Expression
- Endotoxine (LPS, TLR49)
 - Resistenz gegen Verdauung in Phagozyten
 - Fieber
- Enterotoxine
 - Sekretorische Antwort (invasive SE, ST)
- Zytotoxine:
 - Zerstörung der Darmepithelzellen (Proteinbiosynthese)
- Plasmide
 - Virulenzfaktoren
 - Resistenzgene

 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
 University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Zoonose-relevante Salmonellen



Salmonella Enteritidis und *S. Typhimurium*

Pathogenese

- Infektion des Magen-Darmtraktes (Zäkum/Ileum)
- Persistenz (Monate)
- Systemisch Infektion transient (Milz/Leber)
- Kaum klinische Erkrankung (Ausnahme: Eintagsküken)
- Vertikale Übertragung
 - Überleben systemisch
 - Immunsuppression durch Beginn der Legetätigkeit

Rychlik et al., (2014) Veterinary Research, DOI: 10.1186/s13567-014-0119-2

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Interaktion mit dem Immunsystem: SE und ST



- Induktion einer lokalen Entzündung
 - CXC-Zytokine-Expression hochreguliert (10 h pi, exp.)
 - Heterophile/Makrophagen-Infiltration
 - Restriktion der Organinvasion
- Systemische Phase
 - Proinflammatorische Zytokine
 - Transiente Hepatosplenomegalie
- Clearance: Th₁-vermittelt
 - Hohe IFN-γ Expression (14-28 dpi)
 - Antikörpertiter (Bedeutung? – Protektion)
 - Schnelle, hohe Antikörpertiter (1 W pi)
 - Über 6 Monate detektierbar (hohe Level)

Neish (2007) American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology,
DOI: 10.1152/ajpgi.00274.2006

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

S. Gallinarum – S. Pullorum



- Genome etwas kleiner als von SE/ST (event. Adaptationsprozess?)
- Salmonella pathogenicity Islands (SPI)
- 13 Fimbriengensets
- Flagella negativ!
 - ➔ Keine Expression von CXC Chemokinen/Pro-inflammatorischen Zytokinen (IL-1 β /IL-6) – SG
 - ➔ Runterregulation von CXCLi1 und CXCLi2
- Metabolische Besonderheiten
 - ➔ Genauer Beitrag zur Virulenz unbekannt

08.06.2016
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
9
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Pathogenese wirtsadaptierte Salmonellen



- Infektion
 - Kropf
 - Magen
 - Darm
 - Blinddarm
 - Zäkaltonsillen
 - SP und SG schlechte Kolonisation
 - Aufnahme durch Dendritische Zellen/Makrophagen
 - **Überleben in Makrophagen durch SPI-2 Typ III Sekretionssystem**
 - Effektormoleküle: Interferenz mit intrazell. Trafficking (keine Fusion zw. Phagosomen und Lysosomen)
 - Über Lymphsystem zu Milz und Leber (?)

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Fowl Typhoid und Pullorum Krankheit



Salmonella Gallinarum und Pullorum

Pathogenese

- Phase 1: Infektion über den Magen-Darm-Trakt
- Phase 2: Etablierung einer **systemischen Infektion**
 - Infektion von Makrophagen und DC
 - Translokation in die Milz und Leber (Replikation)
- Phase 3: Unkontrollierte S.-Replikation und Tod oder Clearance
 - SP: persistente Infektion von Milzmakrophagen

Wirtsfaktoren: SG und SP



Resistenz vs. Empfänglichkeit

Braune Linien > Weiße Linien für SP

- Interaktion mit **Makrophagen und Heterophilen**
 - Progression vs immunologische Clearance
 - **Resistente Tiere:**
 - Makrophagen – Respiratorischer Burst, Zytokin-Induktion – Abtöten der S.
 - Induktion einer protektiven Th1- und Antikörper-Antwort
 - **Empfängliche Tiere**
 - Trägerstatus
 - » Infektion des Reproduktionstraktes (CD4+ T-Zellen ↓)
 - » Equilibrium zwischen adaptiver Immunantwort und Modulation der Wirtsantwort
 - » Immunsuppression mit Beginn der Legetätigkeit

Versagen der Immunantwort



- Versagen der angeborenen Immunantwort
 - Replikation in Milz und Leber
 - Hepatosplenomegalie (Läsionen)
 - Anämie (SG)
 - Septikämie
 - Magendarmtrakt Wiederbesiedlung (Blutungen, massive Entzündungserscheinungen, Ulzera)
 - Tod (6-10 dpi)
 - Bei Persistenz (SP)
 - Weitgehend Clearance
 - Überleben von kleinen Mengen an S. in intrazellulären Nischen.

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Carrier-Status: S. Pullorum



- Persistenz in Makrophagen (Leber, Milz)
 - IL-10 ↓
 - MHC ↓
- Trotz zellvermittelter und humoraler Immunantwort
 - 12 Wochen pi – 10-100 CFU of S.
 - Legebeginn: Systemische Infektion – Reproduktionstrakt (nicht in Hähnen!)
 - Über 50 Wochen pi (Infektion um 7. Lebenstag)

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

SP vs SE



Infektion 1. Lebenswoche

→ 14 dpi:

- SP: Persistenz in Makrophagen in Milz
 - IL-18, IFN- γ = Kontrolle
 - IL-4 \uparrow - Th-2
 - Antikörpertiter $\uparrow\uparrow$
 - Gleichgewicht zwischen Immunantworten
- SE: Clearance bis 28 dpi
 - IFN- γ \uparrow
 - Antikörpertiter \uparrow

Chappell et al. 2009

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Verlauf der Infektion: Salmonellen



➤ Abhängig

- Serovar
- Genotyp des Wirts

Resistent vs. Empfänglich

- Multifaktoriell
- Nramp1, TLR, SAL1 Locus
- Resistent:
 - Oxidatives Killing \uparrow
 - Schnellere Zytokin- und Chemokin-Expression
 - IL-18 (Th-1 assoziiertes Zytokin) \uparrow
- ➡ Schnellere Aktivierung des angeborenen Immunsystems
- ➡ Bessere Aktivierung der adaptiven Immunantwort

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Zusammenfassung



- Die Wirtsantwort ist komplex
 - Wirt + Pathogen + Umwelt
 - Zusammenspiel von tausenden von Molekülen
- SP/SG ≠ SE/ST
 - SP/SG: *SAL1* locus, MHC, *Nramp1*, TLR4
 - SE/ST: iNOS, IL-2, *Nramp1*, TGF-β2 u.a.
- Systemische Salmonellose
 - Evasion der innate Immunantwort
 - Subversion von Makrophagenfunktionen
 - Modulation der adaptiven Immunantwort

- Genotyp
- Alter
- Mikrobiota
- Präimmunität

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Interaktionen zwischen Salmonellen und dem Hühner-Immunsystem



Infektion: fäkal-oral

- Anheftung und Invasion Darmepithel
- Aktivierung der angeborenen Immunität (TLR4,5 und 21)
- Pro-inflammatorische CXC Chemokine und Heterophilen-Infiltration
- Schädigung der Darmschleimhaut und Aktivierung einer Immunantwort
- Wirtsspezifische S: kaum oder keine Aktivierung der angeborenen Immunität

Systemische Antwort

- Translokation Milz, Leber
- Etablierung einer intrazellulären Infektion in Makrophagen
 - Antimikrobielle Reaktionen (*SAL1* Resistenzen)
- Induktion der zellvermittelten Antwort (IFNγ – γδ T-Zellen)
- Immunmodulation und Hochregulation der Th2-Immunantwort (SP, SG)
- Entwicklung einer IgM und IgY Antikörperantwort

Darm-Antwort

- Inflammatorische Antwort (Tregs)
- Rolle der TH17? (Erhalt der Darmintegrität)
- Muzine und Gallinazine limitieren Infektion
- Sekretorisches IgA
- S. Persistenz im hinteren Darm (Zäkum)

Tod

- Unkontrollierte Replikation in Makrophagen von empfänglichen Tieren (Bakteriämie)

Clearance

- Systemische Clearance (2-4 W pi), zellvermittelt und Antikörper
- Darm-Clearance (3-12 W pi) TH1, vermittelt

Persistenz

- Intrazelluläre Persistenz bei wirtadaptierten Serovaren in Makrophagen
- Rekrudescenz nach Immunsuppression in Legehennen durch CD4+ T Zellabfall bei Geschlechtsreife

Initiale Infektion

Etablierung der Infektion

Ausgang der Infektion

Wigly, (2014) Front. Immunol.



Zusammenfassung

- Salmonellen-Infektionen
 - ein gutes Modell für die Forschung
 - Immunologie in der Reproduktion
 - Verständnis des aviären angeborenen Immunsystems
 - Zukunft: Verständnis der immunmetabolischen Veränderungen in der frühen und späten Infektion (Kogut et al., 2016, Poult. Sci.)

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit



Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation