

Molekularne aspekty patogeny salmonellozy

JERZY MOLENDĄ

Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR,
ul. C. K. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Molenda J.

Molecular aspects of *Salmonella* pathogenesis

Summary

The pathogenic activity of *Salmonella* ssp begins with its interaction with cells of enteric mucosa and progresses to disrupt normal intestinal functioning, which results in acute inflammatory cell influx and fluid secretion and enteritis. In its molecular base the pathogen virulence is a multifunction process that engages different classes of determinants. Some of the important ones are chromosomal clusters of pathogen-specific genes designated as the *Salmonella* pathogenicity islands (SPI). The molecular structure and classification of SPI, the number of genes in pathogen virulence and functional role of their protein products are discussed. These proteins, referred to as effectors or toxins, are transported to target structures in host cells by dedicated machinery termed secretion systems, composed of subunits that are homologous among distantly related bacteria. The export of the protein subunits from the cytoplasm to the outer surface of the cell resembles the biogenesis of fimbriae. The importance of the apparatus expression on infection occurrence is discussed.

In view of the presented data it seems that *Salmonella* can use a limited set of macromolecular systems to implement different pathogenic strategies. Probably the particular strategy utilized depends on the environmental specificity of the host.

Keywords: *Salmonella* pathogenicity is pathogenicity

Połączenia *Salmonella* są przyczyną uciążliwych biegunk lub tzw. gorączek durowych, powodujących corocznie na świecie śmierć około 3 milionów ludzi. Rozwój infekcji inicjuje wniknięcie zarazki do organizmu żywiciela, zwykle drogą pokarmową, neutralizacja jego mechanizmów obronnych i kolonizacja tkanek. Następstwem inwazji komórek eukariotycznych jest ich destrukcja, doprowadzająca w skrajnych przypadkach do śmierci makroorganizmu. Właściwościami drobnoustroju decydującymi o jego patogennym działaniu jest zdolność adherencji do komórek żywiciela oraz synteza czynników umożliwiających mu wnikanie do wnętrza komórek i przeżywanie w nich. Dokonane w ostatnich latach odkrycia biologii molekularnej umożliwiły poznanie i zrozumienie szeregu spraw dotyczących mechanizmów patogeny infekcji powodowanych przez te drobnoustroje. Wyłonienie się nowej specjalności, tzw. komórkowej i molekularnej mikrobiologii bierze swój początek z odkryć dokonanych w badaniach jelitowych patogenów. Dzięki nim identyfikowane są coraz to nowe, docelowe dla czynników wirulencji zarazków, struktury komórek makroorganizmu i powstaje coraz dokładniejszy obraz infekcji na poziomie komórki. Zdefiniowane zostały liczne genetyczne determinanty, które w drodze ewolucyjnych zmian zdecydowały o doskonaleniu pasywności aktywności drobnoustrojów. Różnice w ich wirulencji są wynikiem ewolucyjnego nałożenia na stosunkowo konserwatywny genom wirulen-

cji, rozprzestrzenianych między różnymi gatunkami za pośrednictwem plazmidów, bakteriofagów czy tzw. wysp patogenności. DNA wysp patogenności różni się od konserwatywnych odcinków genomu odmienną zawartością par zasad G + C. Wyspy te to stosunkowo duże *loci*, kodujące ważne czynniki wirulencji, obecne wyłącznie w patogennych szczepach danego gatunku (1, 13, 15, 23, 25, 27). W niektórych przypadkach stanowią one część genomu bakteriofagów lub plazmidów i jako ruchome elementy genetyczne są przenoszone między bakteriami w drodze horyzontalnego przekazu genów (20, 22, 31, 32). Sekwencje genów wysp patogenności kontrolują ekspresję systemów sekrecji oraz czynników zaangażowanych w procesy inwazji komórek makroorganizmu i rozwoju w nich zarazków. Są one też ważnymi elementami w ewolucyjnym rozwoju patogennych bakterii, ponieważ ich inkorporacja do niejadliwych drobnoustrojów spowodowała nabycie przez nie patogennych właściwości (5, 9, 17, 26).

Wyspy patogenności

Aktywność patogenna *Salmonella enterica* zależy od ekspresji genów zablokowanych w odcinkach DNA chromosomu lub plazmidów, określanymi mianem wysp patogenności (SPI – *Salmonella* pathogenicity islands). Wyspy te determinują ekspresję czynników przeprowadzających procesy inwazji komórek żywiciela oraz umożliwiających zarazkowi przeżywanie

w tych komórkach (1, 2, 12, 22, 33, 35). Obok kilku małych wysepek w gatunku *Salmonella* zidentyfikowano pięć dużych wysp patogenności (33). W chromosomie *S. Typhimurium* wyodrębniono pięć takich wysp, oznaczonych od SPI-1 do SPI-5 (tab. 1).

DNA SPI-1 kontroluje właściwości patogenne zjadliwych szczepów *Salmonella* oraz syntezę własnego systemu sekrecji. Mechanizm inwazji enterocytów przez te pałeczki jest podobny do *Shigella*. W obu przypadkach proces rozpoczyna indukcja endocytozy zarazków przez enterocyty. Dochodzi do niej w następstwie iniekcji przez system sekrecji typu III produkowanych przez zarazek białek inwazyjnych SipA i SipC (*Salmonella* invasion proteins), które reagując z cząsteczkami Cdc42 i Rac komórek gospodarza doprowadzają do reorganizacji ich cytoszkieletu (3, 9, 35). Jednak nie w każdym przypadku efektery procesu inwazji są kontrolowane przez sekwencje DNA tej wyspy i transportowane przez jej system sekrecyjny. Białko SopE (*Salmonella* outer protein E), bezpośrednio aktywujące niskocząsteczkowe białka Cdc42 i Rac, kodują geny bakteriofaga atakującego *S. Dublin*, *S. Typhi* czy pewne szczepy *S. Typhimurium* (24). Mikroiniekcja tego białka do komórki nabłonkowej inicjuje endocytozę zarazków, w tym także tych, u których uprzednio mutacyjne zmiany w systemie sekrecji hamowały ten proces (24).

Geny SPI-1 determinują ponadto syntezę białka SipB, uczestniczącego zarówno w procesie inwazji (jest wprowadzane wraz SipC w błonę komórkową enterocytów), jak i indukcji apoptozy makrofagów (21).

W przeciwieństwie do licznych białek efektorowych, których funkcja powoduje zmianę struktury komórki gospodarza, pałeczki *Salmonella* syntetyzują także kodowane przez SPI-1 białko SptP, którego akcja przywraca jej pierwotną morfologię. Białko to, produkt genu sptP, oddziałując na cząsteczki Cdc42 i Rac w komórkach makroorganizmu neutralizuje wpływ SopE, czego efektem jest wycofanie zmian w ich cytoszkielecie (8). Wydaje się więc, że zarazki mogą w pewnych okolicznościach naprawiać uszkodzenia komórki dokonane podczas inwazji. Prawdopodobnie efekt ten jest korzystny zarówno dla nich, jak i komórek gospodarza. Geny SPI-1 determinują także syntezę białka SipB, uczestniczącego zarówno w procesie inwazji, jak i indukcji apoptozy makrofagów (18).

SPI-2 *S. enterica* odkryto podczas obserwacji mutantów, które wprowadzone dootrzewnowo myszkom, w przeciwieństwie do szczepów wyjściowych, odznaczały się znacznie obniżoną inwazyjnością i wydłużonym okresem przeżywania w makrofagach (25, 28, 30). Odmienne niż w mutacjach genów SPI-1, mutanty SPI-2 zachowywały swoje właściwości inwazyjne, natomiast traciły zdolność przeżywania i rozwoju w makrofagach. SPI-2 jest więc niezbędna dla przeżywania *Salmonella* wewnątrz makrofagów poprzez indukcję ich apoptozy (25, 30). Zgromadzone w fagosomach patogenne drobnoustroje blokują ich łączenie

Tab. 1. Charakterystyka wysp patogenności pałeczek *Salmonella* (SPI)

Symbol wyspy	Determinowane właściwości patogenne	Piśmienictwo
SPI-1	(40 kb), determinuje zdolność inwazji komórek nabłonkowych oraz indukowaną apoptozę makrofagów	(6)
SPI-2	(40 kb), zawiera geny kodujące zdolność przeżywania zarazków w makrofagach oraz rozwój systemowych infekcji	(36, 41)
SPI-3	(17 kb), zawiera specyficzny dla gatunku gen <i>mgfC</i> , odpowiedzialny za przeżywanie zarazka w makrofagach, ponadto sekwencje SPI-3 mogą zawierać dodatkowe geny, determinujące zjadliwość albo inne właściwości charakterystyczne dla <i>Salmonella</i>	(2)
SPI-4	(27 kb), zawiera <i>locus</i> determinujący syntezę białek neutralizujących defensy makrofagów	(33)
SPI-5	(15 kb), zawiera geny uczestniczące w ekspresji właściwości enteropatogennych <i>Salmonella</i>	(47)

się z lizosomem w fagolizosom. To sprawia, że nie jest uruchamiany system bakteriobójczy i zarazki rozmnażają się w makrofagu. Jednym ze zidentyfikowanych białek SPI-2, które decydują o ich przeżywaniu jest SipC. Jest ono wydzielane przez aparat sekrecyjny do cytoplazmy komórek żywiciela, gdzie blokuje fuzję fagosomu z lizosomem fagocyta.

Kolejnym czynnikiem wirulencji *Salmonella* jest kodowane przez geny SIP-2 białko SipB indukujące apoptozę makrofagów. W komórce makrofaga białko to wiąże się z kaspazą-1, która jest zarówno aktywatorem programowanej śmierci komórki, jak i proteazą rozkładającą pro-IL-1. Prawdopodobnie wiązanie się SipB z kaspazą aktywuje ją, prowadząc do uwolnienia znacznych ilości interleukiny-1 (IL-1), co ma zasadnicze znaczenie dla rozwoju procesów zapalnych, sekrecji płynów i postępów choroby (19).

W przeciwieństwie do SPI-1, która jest dużym zespołem genów, o sekwencji i funkcji homologicznej z innymi inwazyjnymi patogenami jelitowymi, SPI-2 wydaje się właściwa wyłącznie dla *Salmonella* (25). Hybrydyzacja fragmentu DNA, zawierającego geny *spiA*, *B*, *C* i *R* z reprezentacyjnymi szczepami obu gatunków *Salmonella* wykazała, że reagowały z nim wyłącznie szczepy taksonów tworzących gatunek *S. enterica*, lecz nie *S. bongori* (25). W świetle wyników badań hybrydyzacyjnych jest wielce prawdopodobne że sekwencje SPI-2 zostały nabyte przez *S. enterica* po wydzieleniu się z *S. bongori*, jednak jeszcze przed jej dalszym podziałem na poszczególne podgatunki. To, że ekspresja kodowanego przez SPI-2 aparatu sekrecyjnego następuje dopiero po wnikięciu zarazka do komórki gospodarza, powoduje że kontrolowana przez geny tej wyspy aktywność czynników inwazyjnych, nie jest wcześniej ujawniana (17, 25, 30). Tak więc zdolność inwazji komórek nabłonkowych oraz neutralizacji mechanizmów obronnych ssaków, decydujące o patogenności zarazka, warunkuje nabywanie przez *Salmonella* obu wysp, SPI-1 i SPI-2. Jest to istotny moment w filogenetycznym procesie prze-

kształcania się tego drobnoustroju w wewnątrzkomórkowy patogen (13, 15, 33).

Struktura genetyczna SPI-3 jest fragmentem DNA o długości 17 kb (tysiący par zasad), usytuowanym za genem selC tRNA chromosomu *S. Typhimurium*. W skład SPI-3 wchodzi co najmniej 10 genów, wśród których operon mgtB/mgtC koduje białka MgtC i MgtB, odpowiedzialne za wirulencję dla myszy i przeżywanie zarazka w makrofagach, a także wzrost w podłożach o niskiej koncentracji Mg^{2+} (2). Wśród zidentyfikowanych nowych determinant SPI-3 jedna wykazuje sekwencyjne podobieństwo do regulatorowego białka ToxR *V. cholerae*, a kolejna do adhezyny AIDA-J enteropatogennych *E. coli* (1). Należy podkreślić że dystrybucja genów SPI-3 różni się u poszczególnych podgatunków *Salmonella enterica*. Gen wirulencji mgtC jest obecny u wszystkich, natomiast zespół czterech genów w centralnym fragmencie DNA wyspy stwierdzany jest tylko u niektórych z nich i uważany jest za pozostałość insercyjnych sekwencji wielostopniowego nabywania cech w procesie ewolucji SPI-3 (1).

Analiza molekularna sekwencji SPI-3 i ich filogenetycznej dystrybucji wśród różnych serowarów podgatunku *Salmonella enterica* wskazuje, że SPI-3 posiada mozaikową strukturę jako rezultat wielostopniowego ewolucyjnego procesu jej przekazu i koduje syntezę białek nie zawsze funkcjonalnie podobnych. Jest to zatem zespół cech odmiennych od wykazywanych przez SPI-1 i SPI-2, które *Salmonella* nabyły prawdopodobnie w drodze pojedynczego horyzontalnego transferu genów. Sekwencje SPI-3 kodują syntezę szeregu białek o zróżnicowanej funkcji, wśród których znajdują się również budujące odmienny system sekrecji typu I (4, 25, 33). Zróżnicowana dystrybucja sekwencji SPI-3 u poszczególnych szczepów znajduje odbicie w funkcjonalnym zróżnicowaniu tworzących je genów. Stąd struktura posiadanych przez drobnoustroj sekwencji SPI-3 prawdopodobnie decyduje albo o jego gatunkowej patogenności, albo o tropizmie tkanekowym czy o określonych objawach choroby itp. (1).

Specyficzny dla pałeczek *Salmonella* fragment DNA, oznaczony jako SPI-4, jest zlokalizowany w 92. minucie ich chromosomu i zawiera locus determinujący syntezę białek umożliwiających przeżycie zarazków w komórkach fagocytów (23). Proces ten w głównej mierze zależy od neutralizacji defensyn, antybakteryjnych kationowych peptydów, uwalnianych przez ziarnistości fagosomalne makrofagów i neutrofilów, które budują anionowe kanaliki między warstwami lipidów błony cytoplazmatycznej bakterii, inicjując proces ich destrukcji (7, 13). Oporność *Salmonella* na defensyny kontroluje także gen *phoP*, regulujący proces syntezы neutralizujących je białek. Szczepy z mutacją w obrębie tego genu są niezdolne i hiperwrażliwe na bakteriobójczy efekt wywierany przez zgrubne ekstrakty makrofagów i neutrofilów (7, 13).

Właściwości enteropatogenne szczepów *Salmonella* kontrolowane są przez geny SPI-5. Zintegrowane

w SPI-5 geny: *sopB* oraz *pipA*, *pipB*, *pipC* i *pipD* (pathogenicity island-encoded proteins) stymulują sekrecję płynów i ostry zapalny rozplam komórkowy w izolowanych pętłach jelitowych u bydła (33). Jakkolwiek nie jest znany szczegółowy mechanizm dysfunkcji błony śluzowej jelit i rozwoju *enteritis*, to wiadomo, że proces ten inicjuje interakcja zarazków z enterocytami makroorganizmu (6, 27 31). Adherencja *Salmonella* do enterocytów stymuluje mobilizację leukocytów zasiedlających błonę śluzową jelit (intraepithelial leucocyte – IEL). Ten transepiteliarny sygnał wysyłany jest z chwilą nawiązania kontaktu zarazków z rąbkami szczoteczki enterocytów. Inicjują go wywołane adherencją zmiany w syntezie białek, zarówno w komórkach zarazka, jak i gospodarza. Mutanty *Salmonella* z defektem syntezы systemu sekrecji typu III były niezdolne do indukcji sygnałów dla IEL. System ten bowiem jest niezbędny dla inwazji enterocytów przez te drobnoustroje. (9). Ponadto, jedno z białek *Sop* (*SopB*), którego ekspresję kontrolują geny SPI-5 i jest transportowane przez system typu III, odgrywa istotną rolę w mobilizacji IEL i sekrecji płynów do światła jelit (8, 27).

Okazało się że, mutacje w zakresie SPI-5 *S. Dublin* w znacznym stopniu ograniczają enteropatogenność tych szczepów, przy zachowaniu zdolności do wywoływania systemowych infekcji. Tak więc co najmniej niektóre czynniki zjadliwości *Salmonella*, odpowiedzialne za aktywność enteropatogenną są odmiennie od tych, które wywołują systemową salmonellozę. Jest wysoce prawdopodobne, że różne wyspy patogenności są odpowiedzialne za specyficzne fazy procesu infekcyjnego (14). Tak więc inkorporacja SPI-5 do genomu *Salmonella* może spowodować nabycie przez zarazek enteropatogennych właściwości (33).

Systemy sekrecji

Pałeczki Gram-ujemne wydzielają do środowiska zewnętrznego białka efektorowe, inicjujące w komórkach gospodarza rozmaite funkcje toksyczne, takie jak: cytotoksyczność, proteoliza, hemoliza, fosforylacja i defosforylacja białek itp. (1, 2). Do ich transportu wykorzystują systemy (aparaty) sekrecyjne, którymi białka te przenoszone są poprzez wewnętrzną i zewnętrzną błonę komórek. Opisano co najmniej cztery takie struktury oznaczone jako typy sekrecji I-IV (1). Okazało się że większość białek strukturalnych tych systemów wykazuje znaczną homologię z białkami zaangażowanymi w biogenezę fimbrii typu IV (fimbrii tworzących wiązki – bfp), rzęsek i receptorów bakteriofagów oraz związana jest z błoną wewnętrzną bakterii (20, 34). W procesach tych istotną rolę odgrywa białko *EspA* (sekretyna), tworzące strukturę kanałika sekrecyjnego, przez który elementy fimbrii, a także różne białka uczestniczące w procesie patogenyzy, transportowane są na powierzchnię komórki (1, 21, 27, 29, 31, 34). Eksport toksyn produkowanych przez bakterie, a także licznych enzymów odbywa się za po-

średnictwem systemu sekrecji typu II, określanego także mianem końcowego odcinka (odgałęzienia) głównej ścieżki sekrecyjnej komórki (general secretory pathway). Tworzy go 12-14 białek niezbędnych do dwustopniowego procesu transportu poza komórkę. Po rozpoznaniu typowej sygnałnej sekwencji białka jest ono transportowane główną ścieżką sekrecyjną przez błonę wewnętrzną do przestrzeni periplazmatycznej, a stąd dalej na powierzchnię komórki za pośrednictwem systemu sekrecji typu II (29).

Jednak powszechny u patogenów jelitowych jest wyspecjalizowany system sekrecji typu III, transportujący toksyczne białka z cytoplazmy komórki zarazka bezpośrednio do docelowych struktur komórki gospodarza. Mechanizm ten uruchamiany jest wyłącznie przy bliskim kontakcie komórek zarazka z komórkami docelowymi (contact dependent) (7). Ekspresję tego systemu kontroluje ponad 20 genów, wśród których niektóre *loci* są wspólne z determinantami kontrolującymi syntezę fimbrii (4, 26, 34).

Aparat sekrecji typu III u pałeczek *S. Typhimurium* utworzony jest z kanalikowych wypustek wyrastających ponad powierzchnię komórki, zbudowanych z powtarzających się sekwencji białka EspA, zakotwiczonych dwoma pierścieniami górnymi w jej błonie zewnętrznej i dwoma dolnymi w błonie wewnętrznej (21). Zgodnie z obecnie akceptowaną hipotezą, kanałiki te za pośrednictwem usytuowanego na ich szczycie białka (translocon) penetrują jak igły strzykawek błony komórek makroorganizmu, transportując bezpośrednio do komórek docelowych białka efektorowe. Za pośrednictwem tego systemu cząsteczki białek przenoszone są wprost z cytoplazmy zarazka do komórek gospodarza, z pominięciem przestrzeni periplazmatycznej, skąd transportuje je system sekrecji typu II (21).

Zatem aktywacja tego systemu uruchamia sekrecję i translokację licznych bakteryjnych białek do komórek docelowych makroorganizmu (8). Są wśród nich, między innymi, stymulatory sygnałów prowadzących do różnych zmian metabolizmu komórek żywiciela czy internalizacji pałeczek *S. Typhimurium* przez nefagocytujące komórki, jakimi są enterocyty. Pobudzana przez białka zarazka agregacja aktyny prowadzi do reorganizacji cytoszkieletu enterocytów i do makropinocytosis (3, 13, 27). Zmiany dokonujące się w cytoszkiecie przypominają reakcje komórek nabłonkowych wywoływane przez różne agonisty, takie jak: czynniki wzrostu, hormony, czynniki onkogenne itp. (28). Innym, istotnym w patogenezie salmonellozy efektem translokacji białek zarazka do komórek makroorganizmu jest indukcja prozapalnych cytokin. Zależy ona od aktywacji czynników transkrypcji w jądrze komórkowym (19). Cytokiny są prawdopodobnie stymulatorami zmian zapalnych w jelitach, występujących zwykle w przebiegu infekcji. Ta aktywność zarazka jest więc ściśle związana z funkcją systemu sekrecji białek typu III. Za jego pośrednictwem dostarczane są do komórek docelowych białka efektorowe, urucha-

miające w nich cykl określonych przemian. Są one elementami struktury tego systemu i nie wszystkie zostały zidentyfikowane. Jednym z rozpoznanych jest białko SopE, stymulujące zarówno reorganizację cytoszkieletu komórek żywiciela, jak i produkcję prozapalnych cytokin (16). Zatem jego ekspresja umożliwia uruchomienie przemian, których efektem są zmiany morfologii komórki oraz funkcji jej jądra. Jest więc możliwe, że *S. Typhimurium* może użyć tego samego efektora do wywołania odmiennych odpowiedzi komórki gospodarza. Co więcej, białko SopE może również aktywować kilka niskocząsteczkowych białek wiążących GTP-azę, które wtedy regulują różne sygnałne ścieżki zmian w komórkach gospodarza (16).

Podsumowanie

Patogenne drobnoustroje wykształciły różne mechanizmy, prowadzące do zmiany fizjologicznych funkcji komórek żywiciela w taki sposób, aby w nich mogły przeżywać i rozmnażać się. W kontekście molekularnym, wywoływanie choroby przez patogenne drobnoustroje jest wieloczynnikowym procesem, w którym uczestniczą dwie klasy determinant genetycznych. Pierwsza z nich obejmuje geny kontrolujące przebieg procesów fizjologicznych komórki bakteryjnej, umożliwiających jej przeżywanie zarówno w środowisku organizmu żywiciela, jak i poza nim. Są one zwykle obecne u patogennych, jak i niepatogennych drobnoustrojów. U *Salmonella* w skład tej grupy wchodzi regulacyjne geny dwucistronowego operonu *phoP/phoQ*, kontrolujące ekspresję ponad 20 *loci*. Jest to główny regulator ekspresji cech zjadliwości u *Salmonella* (2, 11, 12). Do tej grupy zaliczane są także takie geny, jak np. *aroA*, kodujące zdolność syntezy aromatycznych aminokwasów, nieobecnych w tkankach żywiciela oraz szereg innych, kontrolujących procesy życiowe komórki czy reperacji uszkodzeń DNA (14).

Druga klasa genów wirulencji kontroluje ścieżki metaboliczne, specyficzne dla patogennych drobnoustrojów i tylko wyjątkowo niektóre z nich stwierdzone są u niepatogennych odmian. Grupują je struktury określane mianem wysp patogenności. Początkowo zakładano, że sekwencje te zawiera tylko plazmidowy DNA, później jednak okazało się, że są obecne także w chromosomie patogennych bakterii. Decydują one o tak istotnych właściwościach patogennych, jak: zdolność inwazji komórek eukariotycznych, neutralizacja mechanizmów obronnych gospodarza i destrukcja jego komórek. Rodzaj tych destrukcji, ich ilościowy wymiar decyduje o charakterze i nasileniu zmian chorobowych. W drodze ewolucyjnych przemian patogenne drobnoustroje wykształciły też zintegrowane z wyspami patogenności odpowiednie mechanizmy translokacji czynników wirulencji do komórek gospodarza. Jak się okazało biogeneza tych mechanizmów jest niemal identyczna z systemami transmisji na powierzchnię komórki elementów struktury takich organelli komórkowych, jak fimbrie czy rzęski. Rozwój tych wy-

soce specyficznych i często bardzo złożonych mechanizmów pozostaje zapewne w związku z długotrwałą koegzystencją zarazków (nosicielstwo) z komórkami makroorganizmu (9). Ich ekspresja zatem decyduje o ujawnieniu patogennych właściwości zarazka (2, 5, 11, 12).

Wirulentny fenotyp *Salmonella* jest więc kompleksem wielu czynników genetycznych. Wydaje się, że ekspresja genów wirulencji jest w wysokim stopniu skoordynowana, tzn. właściwe ilości każdego z białek efektorowych są produkowane w ściśle określonym czasie i we właściwym miejscu. Zarazek, zależnie od warunków środowiskowych, w których się znajduje, uruchamia w ramach posiadanych możliwości właściwe czynniki wirulencji. Istotne znaczenie ma też możliwość kierowania tego samego efektora do różnych struktur docelowych komórki i stymulacji w nich różnych patogennych efektów (np. białko SopE). Wszystko to decyduje o postaci klinicznej infekcji, a niekiedy w ogóle o jej wystąpieniu.

Patogenna aktywność zarazka zależy także od stanu organizmu gospodarza. Różne jego dysfunkcje ułatwiają zarazkom inwazję i destrukcję tkanek. Okazało się, że u myszy z defektem produkcji enzymu NADPH-oksydazy, niezdolnych do tworzenia reaktywnych związków tlenowych, zabijających drobnoustroje w fagolizosomie, chorobę wywoływały mutanty SPI-2 z upośledzeniem funkcji aparatu sekrecyjnego typu III. U normalnych myszy zamknięte w fagosomie zjadliwe szczepy *Salmonella* blokują dostęp do niego NADPH-oksydazy, do czego nie są zdolne mutanty SPI-2 z defektem aparatu sekrecji typu III (32).

O ile znany jest wpływ różnych czynników środowiska makroorganizmu na właściwości patogenne *Salmonella*, to właściwie niewiele jest danych, czy i w jakim zakresie przebywanie poza nim oddziałuje na właściwości patogenne drobnoustroju (środowisko żywności, procesy jej przetwarzania). Nie wiadomo, czy pH, temperatura, a itp., powodujące hamowanie ekspresji pewnych cech fenotypowych, np. fimbrii (31), mogą również powodować zmiany genotypu, skutkujące trwałą utratą zdolności syntezy określonych czynników wirulencji. Wiedza z tego zakresu mogłaby być wykorzystana w modelach mikrobiologii prognostycznej i ocenie ryzyka.

Piśmiennictwo

- Blanc-Potard A.-B., Solomon F., Kayser J., Groisman E. A.: The SPI-3 island of *Salmonella enterica*. J. Bacteriol 1999, 181, 998-1004.
- Blanc-Potard A.-B., Groisman E. A.: The *Salmonella* selC locus contains a pathogenicity island mediating intramacrophage survival. EMBO J, 1999, 16, 5376-5385.
- Chen L. M., Hobbie S., Galan J. E.: Requirement of CDC42 for *Salmonella* Typhimurium - induced cytoskeletal reorganization and nuclear responses. Science 1996, 274, 2115-2118.
- Collazo C. M., Galan J. E.: The invasion-associated type-III protein secretion system in *Salmonella* - a review. Gene 1997, 192, 51-59.
- Donnenberg M. S.: Pathogenic strategies of enteric bacteria. Nature 2000, www.nature.com
- Eckmann L., Kagnoff M. F., Fierer J.: Epithelial cells secrete the chemokine interleukin-8 in response to bacterial entry. Infect. Immunity 1993, 61, 4569-4574.

- Fields P. J., Groisman E. A., Heffron F.: A *Salmonella* locus that controls resistance to microbial proteins from phagocytic cells. Science 1989, 243, 1059-1062.
- Fu Y., Galan J. E.: The *Salmonella* Typhimurium tyrosine phosphatase SptP is translocated into host cells and disrupts the actin cytoskeleton. Mol. Microbiol. 1998, 27, 359-368.
- Galan J. E.: Molecular genetic bases of *Salmonella* entry into host cells. Mol. Microbiol. 1996, 20, 263-271.
- Garcia del Portillo J. E., Ginocchio C., Finlay B. B.: *Salmonella* invasion of nonphagocytic cells induces formation of macropinosomes in the host cell. Infect. Immunity 1994, 62, 4641-4645.
- Garcia Vescovi E., Soncini F., Groisman E. A.: The role of the PhoP/PhoQ regulon in *Salmonella* virulence. Res. Microbiol. 1994, 145, 473-480.
- Garcia Vescovi E., Soncini F., Groisman E. A.: Mg²⁺ as an extracellular signal environmental regulation of *Salmonella* virulence. Cell 1996, 84, 165-174.
- Groisman E. A.: Bacterial responses to host defence peptides. Trends Microbiol. 1996, 4, 127-128.
- Groisman E. A., Ochman H.: Pathogenicity Islands: bacterial evolution in quantum leaps. Cell 1996, 87, 791-794.
- Hacker J., Blum-Oehler G., Mühlendorfer J., Tshäpe H.: Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. Mol. Microbiol. 1997, 23, 1089-1097.
- Hardt W. D., Chen L. M., Schuebel K. E., Bustelo X. R., Galan J. E.: *Salmonella* Typhimurium encodes an activator of Rho GTPases that induces membrane ruffling and nuclear responses in host cells. Cell 1998, 93, 815-826.
- Hensel M., Gleeson C., Shea J. E.: Simultaneous identification of bacterial virulence genes by negative selection. Science 1995, 269, 400-403.
- Hersh D.: The *Salmonella* invasin SipB induces macrophage apoptosis by binding to caspase-1. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 2396-2401.
- Hobbie S., Chen L. M., Davis R., Galan J. E.: Involvement of the mitogen-activated protein kinase pathways in the nuclear responses and cytokine production induced by *Salmonella* typhimurium in cultured intestinal cells. J. Immunol. 1997, 159, 5550-5559.
- Kavoulis D. K., Somara S., Maneval D. R. Jr., Kaper J. B.: A bacteriophage encoding a pathogenicity island, a type-IV pilus and phage receptor in cholera bacteria. Nature 1999, 399, 375-379.
- Kavoulis D. K., Somara S., Maneval D. R. Jr., Kaper J. B.: A bacteriophage encoding a pathogenicity island, a type-IV pilus and phage receptor in cholera bacteria. Nature 1999, 399, 375-379.
- Lee C. A.: Pathogenicity islands and the evolution of bacterial pathogen. Infect. Agents Dis. 1996, 5, 1-7.
- Mecas J. J., Strauss E. J.: Molecular mechanisms of bacterial virulence type III secretion and pathogenicity islands. Emerg. Infect. Dis. 1996, 2, 270-288.
- Mitrold S., Sukham A.: Isolation of temperate bacteriophage encoding the type III effector protein SopE from an epidemic *Salmonella* Typhimurium strain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 9845-9850.
- Ochman H., Soncini F. C., Solomon F., Groisman E. A.: Identification of a pathogenicity islands required for *Salmonella* survival in host cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1996, 93, 7800-7804.
- Osek J.: Molekularne podstawy chorobotwórczości *Escherichia coli* O157. Medycyna Wet. 2002, 58, 750-755.
- Osek J.: Molekularne mechanizmy chorobotwórczości enteropatogennych szczepów *Escherichia coli* (EPEC). Medycyna Wet. 2003, 59, 665-669.
- Riddley A. J., Paterson H. F., Johnston C. L., Diekman D., Hall A.: The small GTP-binding protein Rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. Cell 1992, 70, 401-410.
- Russel M.: Macromolecular assembly and secretion across the bacterial cell envelope: type II secretion systems. J. Mol. Biol. 1998, 279, 1516-1519.
- 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. USA 1996, 93, 2593-2597.
- Ugorski M., Kisiela D., Wieliczko A.: Fimbriae *Salmonella enterica*; serovar Enteritidis. Medycyna Wet. 2001, 57, 714-718.
- Vasquez-Torres A.: *Salmonella* pathogenicity island 2-dependent evasion of the phagocyte NADPH oxidase. Science 2000, 287, 1655-1658.
- Wood M. W., Jones M. A., Watson P. R., Hedges S., Wallis T. S., Galynov E. E.: Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* enteropathogenicity. Mol. Microbiol. 1998, 29, 883-891.
- Young G. M., Schmiel D. H., Miller V. L.: A new pathway of the secretion of virulence factors by bacteria: the flagellar export apparatus functions as a protein-secretion system. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 6456-6461.
- Zhou D. G., Mooseker M. S., Galan J. E.: An invasion associated *Salmonella* protein modulates the actin bundling activity of plastin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 10176-10181.