

6 Zusammenfassung

Nachweis intrazellulärer Salmonellen in phagozytierenden Zellen nach oraler Infektion von Mäusen

Regina Schröder,
Institut für Immunologie, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig,
Februar 2002
90 Seiten mit 19 Abbildungen, 11 Tabellen und 94 Literaturstellen

Die orale Aufnahme von Salmonellen stellt den natürlichen Infektionsweg für Mensch und Tier dar. Gelingt es den Salmonellen vom Darmlumen über das Darmepithel in den Organismus zu gelangen, können sie eine systemische Infektion hervorrufen (Septikämie, Typhus). Die Darmwand stellt die entscheidende Barriere dar, deren Abwehrfunktion bei Salmonelleninfektion im Rahmen dieser Arbeit charakterisiert werden sollte.

Die Peyerschen Platten (PP), die in die Darmwand eingelagert sind und an den Bereich der M-Zellen angrenzen, stellen Lymphfollikel dar. In dem Grenzbereich zwischen M-Zellen und PP befinden sich viele Makrophagen und Dendritische Zellen. Diese Zellen sind als „antigen-presenting cells“ (APCs) besonders gut in der Lage, transloziertes Antigen aufzunehmen, es zu prozessieren und in Verbindung mit MHC-Komplexen auf ihrer Oberfläche zu präsentieren, um Effektorzellen des Immunsystems zu aktivieren.

Es wurden Nachweismethoden für Salmonellenantigen und Salmonellen etabliert. Mit Hilfe eines spezifischen Antiserums konnte Salmonellenantigen über immunhistochemische und durchflusszytometrische Methoden nachgewiesen werden. Lebende Salmonellen wurden über die Ausplattierung auf XLD-Agarplatten detektiert. Isolierte Einzelzellen aus den PP wurden über Dichtegradientenzentrifugation in die Fraktion der phagozytierenden Zellen und in die Fraktion der B- und T-Zellen separiert und analysiert.

Nach *In-vitro*-Infektion isolierter Dendritischer Zellen konnten über elektronenmikroskopische Analyse Salmonellen in den Dendritischen Zellen nachgewiesen werden.

12 Stunden nach oraler Infektion der BALB/c-WT-Mäuse wurden über Ausplattierung Salmonellen in der Fraktion der phagozytierenden Zellen sowie der B- und T-Zellen der PP nachgewiesen. Der Anteil der infizierten Zellen war jedoch sehr niedrig. 4 Stunden nach oraler Infektion der Mäuse war ein ebenso großer Anteil der Salmonellen in den PP intrazellulär wie extrazellulär vorhanden.

Salmonellenantigen tragende Zellen wurden mit Hilfe der Durchflusszytometrie erfasst. So zeigte sich, dass bereits vier Stunden nach oraler Infektion ca. 0,09 % bis zu 0,61 % der

Zellen aus Milz und den PP mit Salmonellenantigen beladen waren. Dies ist ein äußerst niedriger Anteil von Zellen, doch dieser niedrige Prozentsatz der antigenpräsentierenden Zellen reicht aus, um eine effektive Immunantwort zu induzieren.

Histologische Untersuchungen auf Entzündungsreaktionen ergaben vier Stunden *p.i.* keinen Hinweis auf eine Entzündung. Mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten keine Salmonellen in den PP nachgewiesen werden.

Der Vergleich der Organkeimlasten der PP der Mäuse mit und ohne Interleukin 12 (IL-12) zeigte signifikante Unterschiede. Während die Gesamtkeimzahl zweier PP in den Wildtypmäusen nur 7 Salmonellen betrug, konnten in den IL-12-defizienten Mäusen 28 bzw. 34 Salmonellen nachgewiesen werden.

Das IL-12 wird als Reaktion auf einen entzündlichen Reiz gebildet, liegt aber auch in membrangebundener Form konstitutiv auf Makrophagen und Dendritischen Zellen vor. IL-12 spielt eine wichtige Rolle in der Aktivierung von Bakterizidiemechanismen. Deshalb ist es möglich, dass das IL-12 in den Wildtypmäusen zu einer verbesserten Abtötung der Bakterien führte. In den IL-12-defizienten Mäusen trug die Abwesenheit von IL-12 dazu bei, dass ein höherer Anteil der eingedrungenen Bakterien am Leben blieb.

