

Les sérotypes de *Salmonella* induisent différentes interactions cellulaires et moléculaires avec les cellules épithéliales intestinales porcines IPEC-1

Mustapha BERRI (1), Michel OLIVIER (1), Claire CHEVALEYRE (1), Sandrine MELO (1), Sylvie ROCHE (1), Philippe VELGE(1),
Isabelle VIRLOGEUX-PAYANT (1), François MEURENS (2)

(1) ISP, INRA, Université François Rabelais de Tours, UMR 1282, 37380, Nouzilly, France

(2) ONIRIS, ENV Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes-Atlantique, site de la Chantrerie, 44307 Nantes cedex 03

mberry@tours.inra.fr

Different cellular and molecular interactions with porcine intestinal epithelial cells IPEC-1 according to *Salmonella* serotype

The ability of *Salmonella* serotypes to infect orally a given host and induce pathology relies on their cellular and molecular interactions with the intestinal epithelium. In pigs, the serotype *S. Choleraesuis* induces septicemia while *S. Typhimurium* induces gastroenteritis or an asymptomatic carrier state of the bacteria. *S. Typhisuis*, a serovar rarely studied, is able to cause hemorrhagic diarrhea and colon inflammation. An *in vitro* approach was used to establish a correlation between the capacity of different *Salmonella* serotypes to adhere, invade and induce an immune response depending on the porcine intestinal epithelial cells IPEC-1. To this end, *S. Choleraesuis*, *S. Typhimurium* and *S. Typhisuis* were evaluated using this *in vitro* cellular model in comparison with *S. Dublin* and *S. Gallinarum*, two host-specific of cattle and poultry respectively. We have shown that with *S. Typhimurium* and *S. Choleraesuis*, the invasion percentage of non-polarized IPEC-1 cells was higher than that obtained with *S. Typhisuis*, *S. Dublin* or *S. Gallinarum*. In contrast, *S. Typhisuis* invaded successfully polarized IPEC-1 cells as well as *S. Choleraesuis* and *S. Typhimurium* but unlike *S. Gallinarum* or *S. Dublin*. The analysis of the immune response induction, using RT-qPCR, showed a significant increase of inflammatory cytokine expression such as IL-8, TNF α , IL1 α or IL1 β , CCL20 and CCL25 chemokines and TLR4 receptor in polarized IPEC-1 cells infected with *S. Typhimurium* and *S. Typhisuis* serotypes. Comparatively, *S. Choleraesuis* infection did not induce any change in the expression of these mediators. Thus, the first cell interaction steps with polarized IPEC-1 are able to distinguish serotypes based on their target species whereas induction of the immune response would differentiate a pig's serotypes according to their pathogenesis.

INTRODUCTION

Les infections à *Salmonella* constituent un problème majeur pour l'industrie porcine et la santé publique, car cet animal est un réservoir pour les infections chez l'homme. Le rapport européen sur l'analyse quantitative des risques microbiologiques estime que 10 à 20% des cas diagnostiqués de salmonellose chez l'humain en Europe sont associés à la consommation de viande de porc contaminée. *S. Typhimurium* est le serotype plus fréquemment isolé dans ce cas. Ce sérotype est associé, chez le porc, avec une maladie entérique ou un portage asymptomatique de la bactérie. Les sérovars *S. Choleraesuis* et *S. Typhisuis* se sont adaptés spécifiquement au porc et provoquent chez cette espèce respectivement une septicémie ou des diarrhées hémorragiques et une inflammation du colon (Boyer et al. 2008). La lutte contre les salmonelles est essentiellement basée sur l'utilisation des antibiotiques qui contrôlent les signes cliniques de la maladie. Cependant, l'utilisation de l'antibiothérapie ne modifie pas la durée et le niveau d'excrétion des salmonelles dans l'environnement de l'élevage et favorise l'émergence de souches résistantes. Il est donc important de comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en œuvre au cours de l'interaction des salmonelles avec son hôte afin d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et/ou prophylactiques. Pour cela, une approche *in vitro* de culture de cellules épithéliales intestinales porcines IPEC-1 non polarisées ou polarisées a été

utilisée dans le but d'établir une corrélation entre la capacité d'invasion et d'induction de la réponse immunitaire en fonction du sérotype de *Salmonella*.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Agents pathogènes étudiés

Plusieurs sérotypes de *Salmonella* ont été utilisés : *S. Dublin* est adapté aux bovins, *S. Gallinarum* aux volailles alors que *S. Choleraesuis* et *S. Typhisuis* se sont adaptés à l'espèce porcine. En revanche, *S. Typhimurium* possède un large spectre d'hôtes car elle infecte l'Homme et divers animaux y compris le porc. Ces souches sont issues d'une collection de salmonelles disponible à l'unité UMR ISP 1282 de l'INRA Centre val de Loire. Elles ont été conservées dans 25% de glycérol à -80°C jusqu'à utilisation.

1.2. Infections des cellules épithéliales intestinales IPEC-1

Pour évaluer la capacité d'adhésion des bactéries, le milieu de culture est enlevé et les cellules sont infectées, à une multiplicité d'infection (MOI) de 10 :1 en déposant 300 μ L de suspension bactérienne contenant $4 \cdot 10^6$ micro-organismes par puits pendant 30 minutes à 37°C avant de subir six lavages. Le pouvoir invasif est évalué après une incubation de 30 minutes à 37°C suivie de l'addition de 100 μ g de gentamicine pendant 90 minutes supplémentaires. Les taux d'adhésion et d'invasion ont