

# Salmonella Patojenitesinin Moleküler Mekanizmaları

## Molecular Mechanisms of Salmonella Pathogenicity: Review

Mustafa AKÇELİK,<sup>a</sup>  
Nefise AKKOÇ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Biyoloji Bölümü, Ankara Üniversitesi  
Fen Fakültesi, Ankara

Geliş Tarihi/Received: 26.05.2009  
Kabul Tarihi/Accepted: 02.10.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Mustafa AKÇELİK  
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi,  
Biyoloji Bölümü, Ankara,  
TÜRKİYE/TURKEY  
akcelik@science.ankara.edu.tr

**ÖZET** Patojenik *Salmonella* suşları insan ve diğer birçok memeli türünde hastalık etkenidir. *Salmonella* serotipleri gastroenteritiden, tifo, bakteriyemi, fokal enfeksiyonlar ve yaşam boyu taşıyıcı duruma kadar geniş bir hastalık spektrumuna yol açabilmektedir. Bu hastalıklar etiyojik açıdan değerlendirildiğinde, birbirinden belirgin hatlarla ayrılan farklılıklar içermektedir. Ancak konak-patojen ilişkilerinin temel moleküler mekanizmalarının benzerliği, *Salmonella*'yı söz konusu ilişkilerin açıklanmasında model bir mikroorganizma haline getirmiştir. *Salmonella enterica serotype typhimurium* (*S. Typhimurium*) tarafından indüklenen enterokolitin moleküler patojenitesi üzerinde, doku kültürü ve yenidoğan buzağı model sistemleri ile yürütülen yeni çalışmalar, diyareye yol açan karmaşık konak-patojen ilişkilerindeki anahtar olayların açıklanmasında önemli gelişmeler sağlamıştır. Diğer yandan Afrika'da bulunan AIDS'li hastalar arasında gerçekleştirilen en son epidemiyolojik gözlemler, *S. typhi*'nin adaptif bağışıklıktan kaçma yeteneğinde olduğu görüşünü desteklemiştir. Tifoya yol açmayan *Salmonella* serotipleri, sağlıklı bireylerin savunma mekanizmaları ile baş edemezler ve bu nedenle bakterilerin intestinal mukozadan sistemik enfeksiyon bölgelerine yayılması kısıtlanır. Gastroenterite yol açan ve tifo etmeni olmayan *Salmonella* serotiplerinin konak işgal mekanizmalarının anlaşılması üzerine sağlanan gelişmeler, Typhi'nin savunma mekanizmalarını aşmasında yardımcı olan spesifik özelliklerini ve neden gastroenterit yerine tifoya yol açtığını tanımlamamıza yardımcı olmuştur. Özellikle *Salmonella*'da patojenite ile ilişkili moleküler elemanların genetik ve biyokimyasal esasının tanısı, enfeksiyon hastalıklarının temel biyolojik süreçlerinin açıklanmasına öncülük etmektedir. Bu derleme, *Salmonella* patojenitesinin moleküler mekanizmaları üzerine sağlanan yeni bulgular üzerinde odaklanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Salmonella* enfeksiyonları; adezin, *Salmonella*

**ABSTRACT** Pathogenic *Salmonella* strains are cause disease in humans and many other mammalian species. *Salmonella* serotypes may cause a wide spectrum of diseases ranging from gastroenteritis, typhoid fever, bacteriemia, focal infections, to lifetime carrier state. These diseases are differ significantly from each other when considering their ethiology. However, similarities on basic molecular mechanisms of host-pathogen interactions have brought the *Salmonella* as a model microorganism to explain these interactions. Newer studies on the molecular pathogenesis of *Salmonella enterica serotype typhimurium* (*S. typhimurium*) induced enterocolitis in tissue culture models and the neonatal calf model have led to an improved to explaining of key events occurring during the complex series of host-pathogen interactions leading to diarrhea. On the other hand, latest epidemiological observations made among patients with AIDS in Africa, seem to support the concept that serotype *S. typhi* is able to evade adaptive immunity. In healthy individuals, nontyphoidal *Salmonella* serotypes are unable to overcome defense mechanisms that limit bacterial dissemination from the intestinal mucosa to systemic sites of infection. Advances in our understanding of the mechanisms by which nontyphoidal *Salmonella* serotypes cause gastroenteritis have helped us defining the unique properties that enable serotype Typhi to trigger host responses in humans leading to the development of typhoid fever rather than gastroenteritis. Especially, identification of genetic and biochemical basis of pathogen associated molecular patterns in *Salmonella* leads to explaining the biological process of infecton diseases. This review focuses on the new findings on molecular mechanisms of *Salmonella* pathogenicity.

**Key Words:** *Salmonella* infections; adhesin, *Salmonella*

**Türkiye Klinikleri J Med Sci 2010;30(1):312-22**

**S**almonella insanlarda gastroenterit ve tifo etkenidir. Dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından açıklanan son istatistiklerde, dünyada yaklaşık 18 milyon tifo (%3.6 ölüm oranı) ve 1.5 milyar gastroenterit vakası (%0.23 ölüm oranı) bildirilmiştir. Özellikle moleküler genetik ve ileri biyokimyasal teknikler kullanılarak elde edilen veriler ışığında *Salmonella* cinsi için; *S. enterica* ve *S. bongori* olarak adlandırılan iki tür önerilmiştir. *S. enterica* daha sonra; *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *houtaenae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *indica* ve *S. enterica* subsp. *arizonae* olarak adlandırılan altı alt türe ayrılmıştır. Serotipler (serovaryete) ile türlerin karıştırılmasını engellemek ve adlandırmayı sadeleştirmek için, serotip esas alındığında alt tür adının gözardı edilmesi (*S. enterica* subsp. I serotype typhimurium yerine, *S. enterica* serotype typhimurium gibi) ve kısa form (*S. typhimurium* gibi) kullanımı önerilmiştir. *S. enterica* sıcak kanlı hayvanları enfekte ederek sistemik ya da sistemik olmayan hastalıklara yol açar. *S. bongori* serotipleri ise soğuk kanlı hayvanlara adapte olmuştur. Bugüne kadar yürütülen serotiplendirme çalışmaları sonucunda, *S. enterica*'ya ait 3000'e yakın serotip saptanmıştır. Belirlenen serotiplerin büyük bir çoğunluğunda, patojenitenin moleküler mekanizması üzerine çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.<sup>1-3</sup> Salmonellozun sıcak kanlı hayvanlarda oluşturduğu sistemik ya da sistemik olmayan enfeksiyonların moleküler düzeyde araştırılmasında *S. typhimurium* model organizma olarak kullanılmaktadır.

*Salmonella*, *Enterobacteriaceae* familyasına ait Gram negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif aerob ve çomak formunda bakterileri içeren bir cinstir. Çomak şeklindeki hücreler yaklaşık 0.5-1.0 (en) x 1-5 (boy) µm boyutlarındadır. *Salmonella* üyelerinin büyük bir çoğunluğu flagella içerir ve hareketlidir. Laktozu fermente etme yeteneği yoktur. Gelişme optimumları 37°C'dir. *Salmonella* üyeleri düşük pH, düşük su aktivitesi ya da yüksek yağ içeriğine sahip gıdalarda sıcaklığa dirençlidir. Gıdaların dondurularak depolanmasında, özellikle donma sıcaklığı civarında canlılık düşer. Optimum pH değeri 6.5-7.5 civarındadır. Ancak pH 4.5-9.0

arasında gelişebilirler. *Salmonella* esas olarak insan ve hayvanların bağırsak sisteminde bulunan bir patojendir. Bazı *Salmonella* üyeleri konağa adapte olmuş ya da konak spesifiktir. Bunun en tipik örneği *S. enterica* serovar typhi'dir. Konak spesifik diğer serovaryeteler: Paratyphi, Sendai (insan), Pullorum/Gallinarum (kanatlılar), Dublin (sığırlar), Choleraesuis (domuzlar, ancak insanları da enfekte eder); Typhimurium ve Enteritidis (insan, sığır, kanatlılar, koyun, domuz, at ve yabani kemirgenlerde ana hastalık etmenleridir) sayılabilir.<sup>2,4</sup>

*Salmonella* serotiplerinin büyük çoğunluğu geniş konak dizgesi içerir. Lağım ya da dışkı örneklerindeki *Salmonella*'lar, uygun koşullar altında suda ya da toprakta haftalarca yaşayabilirler. Suların rutin klorlanması, pastörizasyon ya da birçok genel dezenfeksiyon ajanı kullanılarak *Salmonella*'lar öldürülebilir.<sup>2,5</sup> Ancak, sağlıklı çiftlik hayvanları ve evcil kanatlılarda da *S. typhimurium* kolonize olmakta ve bu yolla hayvandan insana geçiş gerçekleşmektedir. *Salmonella* tüm dünyada gıdalar aracılığı ile enfeksiyona yol açan en önemli etmenlerdir. Bu vakaların %26'sının etmeni *S. enterica* serovar Typhimurium olarak belirlenmiştir. *Salmonella*'nın en çok bulunduğu gıda maddelerinin başında hayvansal ürünler gelmektedir. Bunlar arasında kümes hayvanları eti, kıyım, sosis, yumurta ürünleri, su ürünleri, dondurma, süt tozu ve krema en yüksek risk içeren gıdalardır. Ayrıca çeşitli soslar ve salatalar, pudingler ve diğer süt ürünleri de *Salmonella* riski taşıyan gıdalar arasında yer almaktadır. Ham madde işleme teknolojisi, depolama ve pazarlama koşulları *Salmonella* riskinin büyümesine neden olmaktadır. *Salmonella*'nın yol açtığı gastroenteritin şiddeti konağın yaşına bağlıdır. Yenidoğanlarda, bebeklerde ve yaşlılarda daha şiddetlidir.<sup>6,7</sup>

*S. typhimurium* kromozomu, yaklaşık 4x10<sup>6</sup> baz çifti uzunlukta olan tek bir çevrimsel DNA molekülüdür. Çoğu *Salmonella enterica* üyesi bir virülans plasmid ve lizogenik faj içerir. *S. enterica* serovar typhimurium ve serovar typhi'nin genom dizi analizleri tamamlanmıştır.<sup>8-10</sup>

## 1. SALMONELLA ENFEKSİYONU

Daha önce de ifade edildiği gibi, salmonellozun moleküler mekanizmasının anlaşılmasına yönelik

çalışmalarda kullanılan model bakteri *S. typhimurium*'dur. En yaygın kullanılan konak ise, fare model sistemleridir. Farelerde özellikle tifonun örneklenmesi, sistemi kullanışlı kılan ana unsurdur. Ancak değişik konaklarda serovaryeteler için *Salmonella* patojenitesinde farklı yanıtlar alınması, hastalığın moleküler mekanizması üzerinde yürütülen çalışmalarda ciddi sorunlar yaratmaktadır. Bugüne kadar yürütülen çalışmalardan elde edilen veriler ışığında sistemik ve sistemik olmayan *Salmonella* enfeksiyonunun genel moleküler mekanizmaları aydınlatılmıştır. *Salmonella* enfeksiyonu, primatlar ve insanlarda  $10^5$  ya da daha fazla bakterinin gıdalar yolu ile alımı sonucu başlar. *Salmonella*'lar ilk olarak ince bağırsağın bir bölümünü teşkil eden ve ileoçekal valve yakın bölgede yer alan ileum'a, bakteriyel adhezinler aracılığı ile tutunur ve mukozal hücreler üzerinde kolonize olur. Bu tutunma ve kolonizasyonu ökaryotik hücrelerin işgali (invazyon) takip eder. Hücre işgalinde ilk aşama, Peyer's pach bölgesindeki M hücrelerinin ve enterositlerin içerisine girişidir.<sup>11,12</sup>

Hastaların dışkı örneklerinde lökositlerin varlığı ya da yokluğuna bağlı olarak yangılı diyare ya da sıvı kaybına yol açan diyare tanımlanmaktadır. Dışkı örneklerinde laktoferrin ya da nötrofillerin bulunması yangılı diyareye, dışkıda lökositlerin bulunması halinde ise sıvı kaybına neden olan diyareye karar verilmektedir. Sıvı kaybına yol açan diyareye; *Vibrio cholerae*, enterotoksijenik *Escherichia coli*, enteropatojenik *E. coli* ve enterohemorrajik *E. coli* de neden olmaktadır. Bu bakteriler genellikle invazif değildir ve ince bağırsak mukozasında çok düşük düzeyde yangıya yol açarlar. Buna karşın yangılı diyareye neden olan patojenler (enteroinvazif *E. coli*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.* ve tifoid olmayan *Salmonella* serotipleri gibi) bağırsak epitelini işgal ederler ve bağırsakta yoğun nötrofil akışına neden olurlar.<sup>13,14</sup>

*S. typhimurium* tarafından indüklenen gastroenteritin mekanizması üzerinde yürütülen son çalışmalarda, nötrofil sızması (akışı) ile karakterize edilen yangılı diyarenin bakteriyel işgal ve onu takip eden doğal bağışıklık yanıtından ileri geldiği belirlenmiştir. Enfeksiyon esnasında *S. typhimurium*, *Salmonella* patojenite adası 1 (SPI1)'de kodla-

nan tip III salgı sistemi (T3SS-1) aracılığı ile efektör proteinlerini enjekte ederek, enterositlere ve mikrfold (M) hücrelerine girer. Altı efektör, Rho ailesi GTPazlar için iki guanin nukleotit değişim faktörü (SopE ve SopE2), inozitol fosfat fosfataz (SopB, SigD olarak da anılmaktadır), aktin-bağlanma proteinleri (SipA ve SipC), ve aktiviteleri bilinmeyen efektörler (SopA ve SopD), beraber çalışmak suretiyle bakterinin bağırsak epitel hücrelerine girişini sağlamakta ve bağırsak mukozasında yangı oluşumunu tetiklemektedir.<sup>15,16</sup>

*Salmonella*'nın ince bağırsak epitel hücrelerine tutunması, lümeni kaplayan mukoz tabakadan geçme yeteneği sayesinde gerçekleşir. Hayvan model sistemleri ile yürütülen çalışmalarda, *Salmonella*'nın tutunma ve hücre işgali için öncelikli olarak bağırsak epitelinde bulunan M hücrelerini tercih ettiği saptanmıştır. Bu aşamada ayrıca fagositik olmayan enterosit hücrelerinin de kullanıldığı belirlenmiştir. M hücreleri pinositoz ile patojenleri ve antijenleri içlerine almakta ve Peyer's patches (ince barsakta ve esas olarak da ileumda -incebağırsağın son kısmında- yer alan, lenfatik doku plakları) epitelinin altında bulunan lenfoid hücrelere taşımaktadır. Bu aktivite mukozal bağışıklığın oluşturulması açısından önemlidir. *Salmonella*'nın ökaryotik hücre işgalinde fagositoz yolu da kullanılmaktadır. Bu yolla özellikle CD18 antijenini üreten fagositlerin içerisine girdikleri tespit edilmiştir.<sup>6,7,11,17-20</sup> *Salmonella* serotipleri epitellerin salgı yanıtı oluşturmasını tetiklemekte ve nötrofillerin toplanarak bağırsak lümenine (boşluğa) sızmasına yol açmaktadır. In-vitro koşullarda yürütülen doku kültürü çalışmalarında nötrofil birikimi için, bakteri ve epitel hücrelerde çeşitli sitokinlerin üretimi ile ilişkili proteinlerin sentezlenmesinin zorunlu olduğu saptanmıştır. Özellikle epitel hücreleri tarafından üretilen kemokin interlökin-8 aracılığı ile mukozal boşlukta nötrofil birikiminin teşvik edildiği tespit edilmiştir.<sup>12,21,22</sup> *Salmonella* bağırsak epitel hücrelerini geçtikten sonra, bir diğer bağışıklık sistemi elemanı olan ve mukozal boşlukta yer alan makrofajlar içine girmektedir. Sistemik enfeksiyona yol açan *Salmonella* serotipleri makropinositoz yolu ile makrofaj içine girmekte ve fagositin antibakteriyel fonksiyonlarından kurtulmasını sağlayan virülans

mekanizmaları aktive etmektedir. Enfekte olmuş fagositlerin retikuloendotelial sistemde bulunan diğer organlara göç etmesi bakterinin konak içinde yayılmasını kolaylaştırmaktadır.<sup>12,23</sup>

*S. typhimurium* ile insan hücreleri arasındaki interaksiyon, makrofaj benzeri hücreler (THP-1 veya U937 hücreleri), makrofajlardan türeyen monosit hücreleri veya birincil nötrofillerin, söz konusu bakteri ile enfekte edilmesi sonucu modellenmiştir.<sup>13,14</sup> Son zamanda ise insan vücudundan alınan doku örnekleri *S. typhimurium* ile insan bağırsak mukozası arasındaki ilişkinin tanımlaması amacı ile kullanılmaktadır. İnsan epitel hücrelerinin kullanıldığı bu çalışmalarda; SopB tarafından üretilen fosfatidilinozitol fosfatazlar ile SopE-SopE2 tarafından üretilen RhoGTPaz'ların beraber çalışarak *S. typhimurium* işgali için gerekli olan WASp/Scar proteinlerini aktive ettiği saptanmıştır.<sup>15</sup> Aktive edilen WASp/Scar proteinleri Arp2/3 kompleksini etkileyerek aktin filamentlerinin yeni dallar oluşturmasını sağlamaktadır.<sup>24</sup> SipA proteini bu aşamada aktin polimerizasyonu için gerekli olan kritik dal konsantrasyon miktarını düşürerek, yeni dalların oluşumunu hızlandırmakta ve aynı zamanda ADF/kofilin tarafından yönetilen aktin çözümlerini engellemektedir. Yeni aktin dallarının hızla büyümesi membranı dışarı doğru itmekte ve membran kabartılarının oluşmasına, makropinozitoz ile bakterinin içeri alınmasına öncülük etmektedir.<sup>14</sup>

*Salmonella* enfeksiyonunda gerçek doku hasarı, nötrofiller aracılığı ile; proteazların, miyelopeksidazların ve NADPH oksidazların salgılanması sonucu gerçekleşmektedir. Epitelin bariyer fonksiyonunu kaybetmesinden sonra, kan damarlarından çok miktarda damar sıvısı kaybı meydana gelir ve böylece kandan bağırsak lümenine yüksek oranda sıvı akışı gerçekleşir. Nadir olmakla birlikte, bakteriler koruyucu makrofaj yanıtı oluşmadan önce kan dolaşımına dahil olabilir ve bu durumda da septik şok ve ölüm görülür.<sup>22,23</sup>

Bağırsak mukozasında canlı kalabilmek için *S. typhimurium*'un tercih ettiği niş, makrofajların içerisidir. Makrofajların içerisinde canlı kalmak için ise, SPI2 tarafından kodlanan ikinci bir tipII-I salgı (T3SS-2) sistemine gereksinim vardır. Bu

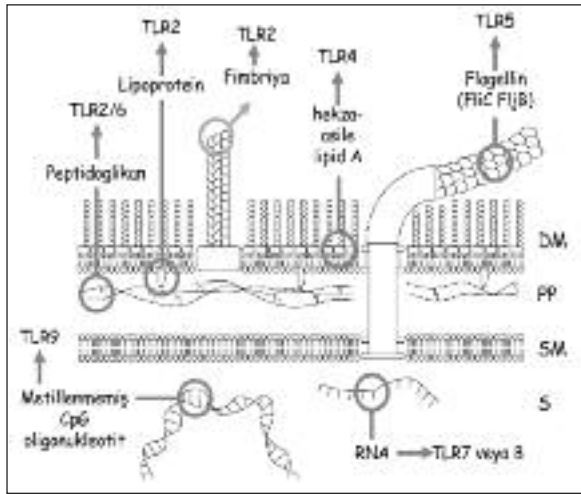
bakterilerde T3SS-2'nin inaktivasyonu sonucu, bu zağalarda ve streptomisin muamele edilmiş farelerde *S. typhimurium*'un ağızdan enfeksiyonunu takip eden 24 saat içerisinde bağırsak mukozasında nötrofil sızmasının önemli ölçüde düştüğü belirlenmiştir. Yangı reaksiyonunun, hücre içi bir adaptör protein olan ve Toll-benzeri reseptörlerden (TLR) alınan sinyalleri birleştiren MyD88'e bağımlı olması, lamina propria'da T3SS-2 ortamlı bakteriyel yaşamın, patojen tanıyan algılayıcılar (pathogen recognition receptors) tarafından sürekli izlendiğine işaret etmektedir.<sup>22</sup>

## 2. SALMONELLA PATOJENİTESİNDE ROL OYNAYAN MOLEKÜLER ELEMANLAR

Değişik mikroorganizmalar, insan hücrelerinde bulunmayan ve bu nedenle insan sistemine dahil olduklarında immün sistem reseptörlerini uyararak bağışıklık yanıtının oluşumuna yol açan yapısal elemanlar içerirler. Bu yapılar, patojen ilişkili moleküler elemanlar olarak adlandırılmaktadır. İnsan doğal immün sisteminin temel patojen ilişkili moleküler eleman algılayıcıları, Toll benzeri reseptörlerdir. Diğer algılayıcılar ise; dektin-1 (b-glukan içeren partikülleri tanıyan C tipi lektin), makrofaj mannoz reseptörü (değişik bakterilerin yüzeyinde bulunan şekerleri tanıyan C tipi lektin), makrofaj süpürücü reseptörü (düşük yoğunluktaki lipoproteinleri ve belirli anyonik polimerleri tanır) ve peptidoglikan yapısını tanıyan reseptörlerdir (karaciğer, özefagus ve kemik iliğinde bulunur). Bugüne kadar TLR tarafından tanınan değişik *Salmonella* ilişkili moleküler elemanlar belirlenmiştir. Bunlar; peptidoglikan (TLR 2 ve 6), lipoprotein (TLR 2) ince agregatif fibriya (agf), hekza asile lipit A (TLR 4) flagellin (TLR 5), metillenmiş CpG oligonukleotitler (TLR 9) ve RNA (TLR7 veya TLR8)'dir (Şekil 1).<sup>25-27</sup>

Patojen ilişkili moleküler elemanlar, patojen mikroorganizmaların büyük bir çoğunluğunda bulunan ve immün sistem tarafından tanınan (doğal ve adaptif immün sistem reseptörlerinin tanıması sonucu immün yanıt oluşturulan) yapılardır. Bu elemanlar yüksek düzeyde korunmuş olup, mikrobiyel metabolizmanın ürünleridir ve antijenik yapı farklılıklarını kapsamazlar.<sup>27,28</sup>





ŞEKİL 1: *Salmonella* patojenitesinde rol oynayan patojen ilişkili moleküler elemanlar (DM: dış membran, PP: periplazma, SM: sitoplazmik membran, S: sitoplazma, TLR (Toll benzeri reseptör)).

## 2.1. SALMONELLA'NIN BAĞIRSAK EPİTELİNE TUTUNMASI

*Salmonella*'da konak hedef doku yüzeyine (bağırsak epitel) tutunmada rol oynayan temel yapılar, 13 adet operon tarafından kodlanan fimbriya'lar, 2 adet ototransporter protein (ShdA ve MisL) ve mukoid kapsül yapılarıdır.<sup>23,29-31</sup>

Fimbriya'lar, değişik çevresel koşullarda üretilen ve bakterilerin aktif yüzey tutunmasında rol oynayan saç benzeri yapılardır. Bir ya da daha fazla protein monomerinden oluşan bu yapılar hücre yüzeyinden dışarıya doğru sentezlenirler. Fimbriya'lar ökaryotik hücrelerin yüzeyine, doku matriksine, serum proteinine ya da diğer bakterilere tutunma işlevi görürler. Bu tutunma bakterilerin epitel yüzeyinde kolonizasyonu, konak hücreye giriş, konjugasyon ve biyofilm oluşumu süreçleri için zorunludur. *Salmonella*'nın genom dizi analizi sonucunda 13 farklı fimbriyal operon içerdiği saptanmıştır. Ancak bunlardan yalnız iki adetinin (ince agregatif fimbriya, *agf*, ve tip-1 fimbriya, *fim*) in vitro koşullarda üretimi tanımlanmıştır. İnce agregatif fimbriya üzerinde yürütülen detaylı analizler sonucunda; söz konusu fimbriyanın ana alt ünitesi olan AgfA proteininin fibronektine (epitel doku bağ proteini) spesifik olarak bağlandığı ve TLR2 tarafından tanındığı belirlenmiştir. Fim olarak adlandırılan fimbriyanın ana alt ünitesinin (FimH) ise, eritrositler ve maya hücrelerinin yüzeyinde bulu-

nan glikoproteinlerin içerdiği terminal alfa-D-mannoz birimlerine bağlandığı saptanmıştır. Son yıllarda yürütülen glikomiks çalışmaları sonucunda plazmid kodlu fimbriyanın PefA alt ünitesinin (pef) Lewis kan grubu antijenine Gal  $\beta$ 1-4(Fuc $\alpha$ 1-3)GlcNAc (trisakkarit) özgül bağlanma gösterdiği tespit edilmiştir. Uzun polar fimbriya'nın ise sadece heterolog konakta ifadesi örneklenmiş ve patojenin konak sistemde kalıcılığı üzerinde rol oynadığı tanımlanmıştır.<sup>32,33</sup> Diğer dokuz *Salmonella* fimbriyasının in-vitro koşullarda üretilememesi nedeni ile tutunma ve kalıcılıkta oynadıkları roller üzerinde bilgi bulunmamaktadır. Fimbriyal operonların regülasyonu üzerinde yürütülen çalışmalardan elde edilecek veriler ışığında, laboratuvar koşullarında üretimleri mümkün olabilecek ve adhezif özellikleri aydınlatılabilecektir.

*Salmonella*'da MisL ve ShdA olarak adlandırılan iki ototransporter proteinin, adhezif özellikleri tanımlanmıştır. MisL proteininin C terminal bölgesi, *Neisseria gonorrhoeae*'da bulunan immunoglobulin A1 proteaz ailesi üyesi ototransporter proteinlerle benzer özellikler göstermektedir. 955 amino asitlik MisL proteini sistein içermez ya da sistein bulunması durumunda, bu amino asitler arasında disülfit bağları oluşturmaz. Belirlenen ikincil ve üçüncül yapı özellikleri esas alınmak suretiyle, MisL, tip V salgı sistemi tarafından salgılanan bir ototransporter protein olarak tanımlanmıştır. MisL proteini; Enteropatojenik *E. coli*'de bulunan AIDA-1 (%43), *Shigella flexneri*'de bulunan VirG (%38) ve *Yersinia pestis*'de bulunan YapD ve YapH ototransporter proteinleri ile yüksek düzeyde benzerlik içermektedir.<sup>34,35</sup>

MisL proteininin *S. typhimurium*'un patojenitesindeki fonksiyonu fare model sistemlerinde çalışılmıştır. Bu çalışmada bir *misL* mutantının fare bağırsak sisteminde doğal suşa oranla kalıcılığının düştüğü (çekum'da kolonize olma yeteneğini önemli ölçüde kaybetmiştir) ve dışkıda oranının ise önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca MisL ototransporter proteininin *S. typhimurium*'a fibronektin'e (FN) ve kollajen'e bağlanma aktivitesi kazandırılarak, kolonik karsinoma kökenli insan epitel hücrelerinde invaziviteyi artırmada rol aldığı da tanımlanmıştır. Bu veri MisL'in, bağırsakta

*Salmonella*'nın kolonizasyonu için gerekli bir ekstraselüler matriks adhezin proteini olduğuna işaret etmektedir.<sup>35</sup>

*S. typhimurium*'da, MisL dışında, ShdA olarak tanımlanan bir başka ototransporter protein daha izole etmiştir. Bu protein büyük bir dış membran proteini olup, konak hücre heparini gibi davranarak yolcu domaini ile fibronektine ve kollajene bağlanmaktadır. ShdA yolcu domaini 1500 amino asit içerir ve iki bölgeye ayrılır. Burada bir N-terminal tekrarsız bölgeyi, tipA ve tipB olarak adlandırılan iki tamamlanmamış amino asit tekrarı izlemektedir.<sup>34,36</sup> *S. typhimurium shdA* geninin insersiyonel inaktivasyonunun ya da delesyonunun farelerde fekal örneklerden geri alınan bakteri sayısında düşmeye neden olduğu belirlenmiştir. *S. typhimurium* fare enfeksiyonu denemelerinde çekum'un bakteriyel popülasyonun ana rezervuarı olduğu saptanmıştır. *shdA* geni, söz konusu bakterinin çekum'un duvarı ve diğer yapılarına kolonizasyonu için gerekli olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, çekum'da gerçekleşen ShdA-ortamlı kolonizasyon *S. typhimurium*'un sistemde kalıcılığı ve enfeksiyon için zorunludur.<sup>34,37</sup>

*Salmonella*'nın epitel hücrelere tutunması ve kolonizasyonunda rol oynayan son eleman mukoid kapsül yapıları ya da diğer bir deyişle ekzopolisakkaritleridir. *Salmonella*'da en iyi tanımlanmış ekzopolisakkarit yapı Vi-Ag'dir. Vi-Ag, lineer poli- $\alpha$ -1,4-2-GalANAc homopolimeri olup, serotiplere göre C3 pozisyonunda O-asillenmiş grup bakımından farklılıklar içerir. İkinci ekzopolisakkarit yapı selülöz'dür. Çözünmez bir  $\beta$ -(1,4) glukoz homopolimeri olan selülöz, on bin (10000) adet glukoz monomeri içerebilmektedir. Selülöz abiyotik çevrelerde biyofilm oluşumuna yol açarken, konak hücrelerde, özellikle ince agregatif fimbriya ile ilişkilenerken, yüzey tutunmasında rol almaktadır. *Salmonella*'da tanımlanan son ekzopolisakkarit yapı ise kolonik asittir. Kolonik asit yüksek potasyum konsantrasyonundadır ve 15-20°C arasında mukoid yapı oluşturma özelliği gösterir. İki elemanlı bir sistem (PhoP-PhoQ) tarafından regüle edilen kolonik asit üretimi sayesinde abiyotik çevre koşullarında biyofilm oluşumu desteklenerek hücreler oksidatif strese korunur. Son yıllarda yapılan ça-

lışmalarda tavuk ince bağırsak epitel hücrelerinde de kolonik asidin biyofilm oluşturarak tutunmayı güçlendirdiği ve patojenin virülansını yükselttiği belirlenmiştir.<sup>37-40</sup>

## 2.2. KONAK HÜCRE İŞGALI

### 2.2.1 Salgı İyolları

Gram-negatif bakterilerde I den V'e kadar numaralandırılan beş adet salgı yolu bulunmaktadır. T3SS yukarıda açıklanmıştır. Yakın geçmişte yayınlanan bir makalede *Vibrio cholerae*'da tanımlanan VI bir salgı yolu tanımlanmıştır.<sup>27,41</sup>

Tip I salgı sistemi sitoplazmik membran ve dış membranda porların genişlemesi görevini üstlenen en az üç proteinin işlevi ile fonksiyonel olmaktadır. İlk kez *E. coli* alpfahemolisinin (HlyA) ökaryotik hücrelere girişi üzerinde yürütülen çalışmalar sonucu tanımlanan bu sistemin, değişik patojenlerdeki karakteristikleri belirlenmiştir. HlyA modifiye proteine (11-179 amino asitler arasında bir tekrar bölgesi içerir) lipit yan gruplarının bağlanması sonucu meydana gelen bir lipoproteindir. İn vitro sistemlerde kalsiyuma bağlanma özelliği gösterdiği belirlenmiş ve bu yolla ökaryotik hücreler ile ilişkilendiği öne sürülmüştür. Bu interaksiyon HlyA'nın, ökaryotik hücrelerde plazma membranından geçişini ve sitoplazmik içeriklerin hücre dışına akışını teşvik eder.<sup>42-45</sup>

Tip II salgı sistemi, genellikle ana terminal dal olarak (main terminal branch, MTB) adlandırılır. Sistemin, sürekli aktif olan tek bir operon tarafından kodlanan 14'den fazla proteine gereksinim duyduğu saptanmıştır. MTB sistemi aynı zamanda iç ve dış membranlarda, büyük olasılıkla açılma yapıları olarak ortaya çıkan yapıların makromoleküler özelliklerini taşır. MTB aracılığı ile salgılanmanın tipik örneği, *Klebsiella oxytoca*'da pullunazın (PulA) salgılanmasıdır. PulA nişasta hidrolizini gerçekleştiren bir lipoprotein'dir. Önce misel formları oluşturulur ve daha sonra dış çevreye salgılanır. *K. oxytoca*'da MTB yolu bulunduktan sonra, *Vibrio cholerae*'de kolera toksininin, *P. aeruginosa*'da enterotoksin A'nın ve değişik hücre duvarı parçalama aktivitesine sahip enzimlerin bu yolla salgılandığı belirlenmiştir.<sup>45</sup>

Tip III efektör moleküller, iç ve dış membranların genişlemesine yol açacak proteinlerin oligomerik yapıdaki kompleks birliğine gereksinim duyar. Sec mekanizması salgı için zorunlu değildir ancak, yapısal proteinlerin iç membrandan translokasyonunu yönetir. SipA, SopA, SopB, SopD, SopE ve SopE2 *S. typhimurium*'da SPI-1 de kodlanan T3SS tarafından salgılanan efektör moleküllerin bazılarıdır. Bunlar bakteriyel işgalden sonra epitel hücrelerine enjekte edilir.<sup>25,26</sup>

Tip IV salgı sistemi DNA'nın konjugatif transferini gerçekleştiren sistemlerle ilişkilidir. Bu sistem, iç ve dış membranlar ile ilişkili ve periplazma ve sitoplazmada lokalize olan, en az dokuz proteinin koordineli hareketinden sorumludur. Bu sistem sadece Gram-negatif bakterilerde bulunmaktadır.<sup>46</sup>

Tip V salgı sistemi ilk kez *Neisseria gonorrhoeae*'da IgA1 proteazın salgılanmasında tanımlanmış ve ototransporter salgı yolu olarak adlandırılmıştır. Poliprotein (ototransporter) öncüsünün sinyal serisi iç membrandan geçerken kesilir. Bu öncünün iç membrandan eksportu Sec bağımlı izyolu ile gerçekleşir. Ototransporter proteinin b-barrel domainin karboksil terminali, yolcu domaininin dış membrandan transportunu sağlar. Bundan dolayı ne enerji bağlanması ve ne de yardımcı faktörler söz konusu translokasyon sürecinde rol almaz. Bugüne kadar 31 adet IgA1 proteaz-benzeri ototransporter tanımlanmıştır. Bunların 28 adeti, prototipik-Sec bağımlı sinyal sekanslarının bazı karakteristiklerini taşıyan, sinyal peptit domaini içermektedir. Sinyal seri pozitif yüklü amino asitlerden oluşan bir N-terminal domaini içermektedir. Ayrıca, nötral amino asitler içeren bir hidrofobik bölge (H-domaini) ve C terminal konsensus sinyal peptidaz tanıma bölgesi (AXB) içermektedir. Burada A ve B küçük amino asitlerdir ve B oluşumundan sonra peptit yapısından kesilirler. Tipik amino-terminal lider peptidin bulunmaması gibi istisnalar hariç, bu proteinlerin iç salgılanmasında sec-bağımlı mekanizma söz konusudur.<sup>41,47</sup> Tip V salgı sistemi için önerilen ve genel kabul gören modelde, iç membranı geçtikten sonra ototransporter protein periplazmik yüzeyde görülür. Ototransporter proteininin  $\beta$ -domaininin biyofiziksel olarak tercih edilen  $\beta$ -barrel konfigürasyonundaki dış mem-

brana insersiyonunun, kendiliğinden meydana geldiği kabul edilmektedir.  $\beta$ -barrel, çok sayıda amfipatik antiparalel  $\beta$ -katlanmaları içeren kompleks protein yapısı içermektedir. İlk ve son  $\beta$ -katlanmalar, kendiliğinden yakın halka (ring) yapısında ve antiparalel hidrojen bağları oluşturur. Amfipatik primer yapı, moleküler porların oluşumuna izin verir. Burada ototransporter proteinin hidrofobik yan zincirleri, çift tabaka içerisine girdikten sonra birbirini takip eder, ancak merkezdeki hidrofilik yan zincirler sıvı çevre ile teması sağlar. Böylece barrel (fıçı) benzeri porlar oluşur. Yolcu domaini bu kanaldan dışarı salınır. Salınma sonrasında ya kesilir ya da *S. typhimurium*'un ototransporter proteini ShdA gibi bakteri yüzeyine bağlı kalır.<sup>22,34,48</sup>

### 3. SALMONELLA PATOJENİTE ADALARI (SPI)

Farklı türler arasında gerçekleşen yatay gen transferi tarafından, virülans özellik ile ilgili genetik lokusların belirli genom bölgelerinde toplanması sonucu *Salmonella*'da patojenite adalarının (PAI) olduğu görüşü giderek yaygınlık kazanmaktadır. Tüm patojen mikroorganizmalar, bir ya da birden çok virülans faktör içermektedir. Virülans özelliği kodlayan ve genomun aynı bölgesinde lokalize olan patojenite adaları, organizma tipine bağlı olarak, 10-200 kb arasında bölgeleri kapsar. Bu bölgelerin %G+C içeriği ile kodon kullanma özellikleri bakımından diğer genomik bölgelerden farklı oluşu, yatay (lateral) gen transferi yolu ile kazanıldıklarının en önemli kanıtıdır. Diğer kanıtlar ise; patojenite adalarının genellikle doğrudan tekrar edilen DNA bölgeleri ile ve tRNA genleri ile ilişkili olmalarıdır. Zira çoğu ökaryotik ve bazı prokaryotik organizmalarda tRNA genlerinin ve tekrar serilerinin, yabancı DNA'nın entegrasyon bölgeleri olarak işlev gördüğü belirlenmiştir. Patojenite adaları ayrıca, genellikle integrazlar ve insersiyon elementlerinin bir bölümü gibi genetik hareketliliği kodlayan fonksiyonel genler içerirler. Bu nedenle patojenite adaları stabil olmayan bölgeler olarak değerlendirilmektedir. Bugüne dek *Salmonella*'da 10 adet farklı patojenite adası ve iki adet patojenite adası benzeri genomik organizasyon tespit edilmiştir.<sup>49,50</sup> Bunlar içerisinde, genel ya da kısmi virülans fonksiyonları tanımlanmış beş ada üzerinde durulacaktır.

*Salmonella* kromozomunda sentizom 63 içinde yer alan genler *Salmonella* patojenite adası 1 (SPI-1) olarak adlandırılmıştır. Kromozom üzerinde 40 kb'lık bir bölgeyi işgal eden SP-1 lokusu, yaklaşık 30 genin kodladığı Tip-3 salgı sistemi (T3SS-1) aktivitesi ile, hücre yüzeyinde iğne benzeri uzantılar oluşturulup *Salmonella* proteinlerinin konağa aktarılmasını sağlamaktadır. Bu lokusun ikinci elemanı *sitABCD* genleri invazif aktivite ile ilişkili değildir. Söz konusu genler, *Salmonella*'da demir yakalama sistemini kodlamaktadır.<sup>51,52</sup> Bağırsağa invaze olma sürecinde, SPI-1'de kodlanan SipB proteini, hücre içi kaspaz-1'in makrofajlar içindeki aktivasyonunu tetikler. Sistein proteaz ailesinin bir üyesi olan Kaspaz-1, enfekte olmuş makrofajlarda apoptozisi (hücre ölümünü) başlatır. Bu da *Salmonella*'nın bu hücrelerden salınmasına yol açar. Kaspaz-1 aynı zamanda lokal inflamasyonu ve polimorfonükleer fagositlerin (PMN) sızmasını arttıran biyoaktif sitokinleri üretmek için inflamatuvar öncesi sitokinleri (IL1 $\beta$  ve IL18) doğrudan bağlar. Kaspaz-1'in Sip-B aracılığı ile aktive edilmesi, Peyer's patch tipi hücrelerde ve mezenterik lenf düğümlerinde gelişmiş kolonizasyon ile sonuçlanır.<sup>53</sup> Fakat alternatif bir invaze olma mekanizmasının SPI-1'e bağlı olmadığı belirlenmiştir. Burada *Salmonella*, M hücreleriyle ilişkiye girmez ve mukozal yüzeydeki epitel hücreleri ve bakteriler arasındaki sıkı bağlantıları açan dallanmış hücreler tarafından (dentritik hücreler) yakalanırlar.<sup>54</sup> *Salmonella* daha sonra fagositlerde eksprese edilen CD18 aracılığı ile gastrointestinal sistemden kan dolaşımına aktarılır.<sup>52,55</sup> Konak hücrenin içine translokasyonda yer alan ve SPI-1 de kodlanan T3SS'in efektör proteinlerinin büyük bir kısmı tanımlanmıştır. SipA, SipB, SipC, SptP ve AvrA SPI-1 lokusunda yer alan genler tarafından kodlanmaktadır. *Salmonella* türlerinde oldukça korunan *sipABC*, *sptP* genleri ve *avrA* genleri ise SPI-1 ile bitişik, yüksek düzeyde değişken bölgeler olarak tanımlanmıştır. *SopA*, *SopB*, *SopD*, *SopE* ve *SopE2* efektör proteinleri SPI-1'in dışında bağımsız bir lokus tarafından kodlanır. *Salmonella* türlerinde *sopB*, *sopD* ve *sopE2* lokasyonu oldukça stabil iken, faj içeren *sopE* lokasyonu ise değişkendir.<sup>56</sup> SPI-1 genlerinin ifadesinin regülasyonu, lokal ve global regülatör sistemleri içeren karmaşık bir süreçte gerçekleştirilir. AraC sınıfının SPI-1 kodlu transkripsiyonel regüla-

törü olan HilA, SPI-1 kodlu transkripsiyonel bir aktivatör olan InVF'yi kontrol eder. HilC ve HilD de, HilA fonksiyonlarını modüle eden diğer SPI-1 kodlu regülatörlerdir. PhoPQ, OmpR/EnvZ ve BarA/SirA gibi iki bileşenli global regülatör sistemler, SPI-1 genlerinin (flagella demeti sistemi gibi) ifadesini etkiler. Toplu olarak bu regülatör sistemler; düşük oksijen gerilimi, orta dereceli bazik pH, yüksek osmolarite ve kısa zincirli yağ asitlerinin varlığı gibi intestinal lümeninde *Salmonella* tarafından karşılaşılan çevresel uyarılarla uyarılır ve bu da istila genlerinin ifadesiyle sonlanır.<sup>36,57</sup>

SPI-2, *Salmonella*'nın sistemik enfeksiyonu gerçekleştirebilmesi ve konak organlarında çoğalabilmesi için gereklidir. Bu virülans fenotipi, *S. enterica*'nın fagositik hücrelerde yaşamda kalma ve çeşitli ökaryotik hücrelerde vakuoller içinde çoğalabilme yeteneğini sağlar. SPI-2 lokusunun büyüklüğü de 40 kb'dır. Bu lokusta kodlanan ikinci T3SS-2, *Salmonella* efektör proteinlerin konak hücreye lokasyonunu sağlamaktadır. Bu salgı sistemi aynı zamanda patojeni vakuol içinde konak bağışıklık sisteminin efektör fonksiyonlarına karşı da korumaktadır.<sup>52,55</sup> SPI-2'nin kodladığı bazı proteinlerin; fagosit oksidazın ve indüklenebilir nitrik oksit sintazın *Salmonella* içeren vakuollere (SCV) kolokalizasyonunu engellediği belirlenmiştir.<sup>55,58</sup> *Salmonella* enfeksiyonlu epitelyal hücrelerde, konak hücre endozomlarında tübüler agregatların oluşumu gözlenmiştir. Bu fenotip SPI-2-kodlu TTSS efektör proteini SifA'nın translokasyonuna bağlıdır. SifA yönünden eksik olan mutant suşlar SCV'yi sağlayamaz ve doğrudan konak hücrenin sitoplazmasına dahil olur.<sup>59</sup> Makrofajların hızlı apoptozu *Salmonella* tarafından SPI-1'e bağlı işgal ile tetiklenirken, gecikmiş bir Kaspaz-1'e bağlı apoptoz formunun da SPI-2 fonksiyonuna bağlı olduğu saptanmıştır.<sup>53</sup> SPI-2 lokusu içinde diğer genlerin fonksiyonu sistemik patojenite ile ilişkili değildir. SPI-2-kodlu T3SS'in ifadesi SPI-2-kodlu bir iki-bileşenli sistem olan SsrAB tarafından kontrol edilir. SsrAB'nin ifadesi ise, global regülatör fonksiyonlu diğer bir iki bileşenli sistem olan OmpR/EnvZ tarafından ayarlanır. SPI-2 ifadesinde çevresel uyarıların etkileri üzerinde yürütülen çalışmalar, PhoPQ'nun da regülatör görevi üstlendiğine işaret etmiştir.<sup>21,30,35</sup>



SPI-3 tarafından kodlanan virülans faktör, *Salmonella*'nın konak hücre içinde canlı kalabilmesi için önemli olan yüksek afiniteli magnezyum transport sistemidir (MgtCB). MgtCB sistemindeki bozucu bir mutasyonu içeren suşların sistemik virülans etkilerinin ve hücre içinde çoğalma miktarlarının az olduğu saptanmıştır.<sup>50,60,61</sup> Bu gen kümesi içinde yer alan *misL*, bir ototransporter proteini kodlamaktadır. *S. typhimurium* ile enfekte olmuş tavuk ve farelerde bağırsak yüzeyinde bakteriyel kolonizasyonun gerçekleşmesi için *misL* geninin tam aktivitesini göstermesi gerektiği belirlenmiştir.<sup>34,62</sup> *Salmonella* patojenite adası-3 (SPI-3) *S. enterica* serovar typhimurium kromozomunda 81 dakikika bölgesinde yer alan *selC* tRNA geninin önünde (3' ucunda, downstream) lokalize olan 17 kb uzunluğunda bir bölgeyi kapsamaktadır. Bu bölgenin C+G içeriği %47.5'tur ve genomun diğer bölgelerindeki G+C içeriğinden (%52) farklılık gösterir. SPI-3'ün merkezinde yer alan 4 genlik grup *rmbA*, *misL*, *fidL* ve *marT* yalnız bazı alt türlerde bulunmaktadır ve insersiyon seri kalıntıları tarafından genler ayrılmaktadır.<sup>60-62</sup> SPI-3 altı transkripsiyon ünitesi halinde organize olmuş on açık okuma kalıbı (ORF) içermektedir. Bu açık okuma kalıpları, yukarıda söz edilen 4 gen dışında, Mg<sup>2+</sup> transporter protein MTB ve biyokimyasal fonksiyonu bilinmeyen MgtC'yi kodlayan operonu teşkil etmektedir. Yakın geçmişte yürütülen çalışmalar; *mgtC* geninin fare model sistemlerinde, makrofaj içinde ve in-vitro koşullarda düşük Mg<sup>2+</sup> konsantrasyonunda bakterinin canlılığını korumasında rol aldığını göstermiştir.<sup>34,50</sup>

SPI-4'ün fonksiyonel özelliklerine dair henüz yeterli bilgi elde edilememiştir. Ancak yapılan çalışmalar bu adada bulunan genlerin T3SS'e benzer DNA baz dizi özelliği içerdiğini göstermiştir. Bunun yanında transpozon mutasyonu denemeleri sonucunda *Salmonella*'nın makrofaj içinde hayatta kalabilmesi için gerekli fonksiyonları içeren birkaç lokus tanımlanmıştır. SPI-4 içinde yer alan bu lokuslardan biri *ims94* olarak adlandırılmıştır.<sup>19</sup> Son yıllarda yapılan deneyler sonucunda, SPI-4'ün T3SS'e benzer bir mekanizma ile SiiE adı verilen bir adhezin kodladığı tespit edilmiştir. Ancak bu adhezin, fimriyal adhezinlerden farklı bir fonksiyon ile epitel hücrelere tutunmaya yardımcı olmaktadır. %44.8 gibi diğer patojenite adalarına oranla düşük bir G+C içeriğine sahip olan SPI-4, 23 kb büyüklüğünde bir bölgeyi işgal etmektedir. Dizi analizi çalışmalarından elde edilen veriler, söz konusu bölgenin *S. typhi* ile *S. typhimurium* arasında önemli farklılıklar gösterdiğine işaret etmiştir.<sup>9,63</sup>

SPI-5, salgı sistemleri ile translokasyonları gerçekleştirilen efektör proteinleri kodlamaktadır. T3SS-1 aracılığı ile translokasyonu yapılan ve sıvı salınımını başlatarak diyareye neden olan SopB efektör proteini ve T3SS-2 aracılığı ile translokasyonu gerçekleştirilen PipB efektör proteini bu lokusta kodlanmaktadır. SPI-5 genlerinin regülasyon sistemleri, SPI-2 genleri ile benzer bulunmuştur. Söz konusu genlerin aktivasyonu, hücre içi (in-vivo) ya da bakterilerin Mg<sup>2+</sup> kıtlamasına maruz kaldığı in-vitro koşullarda gerçekleşmektedir. Buna karşın SopB ifadesi, HilA fonksiyonuna (SPI-1 kodlu merkezi regülatör protein) bağlıdır.<sup>48</sup>

## KAYNAKLAR

1. Tindall BJ, Grimont PA, Garrity GM, Euzéby JP. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2005;55(Pt 1):521-4.
2. Wain J, House D, Zafar A, Baker S, Nair S, Kidgell C, et al. Vi antigen expression in *Salmonella enterica* serovar Typhi clinical isolates from Pakistan. *J Clin Microbiol* 2005;43(3):1158-65.
3. Gibson DL, White AP, Snyder SD, Martin S, Heiss C, Azadi P, et al. *Salmonella* produces an O-antigen capsule regulated by AgfD and important for environmental persistence. *J Bacteriol* 2006;188(22):7722-30.
4. Singleton P, Sainsbury D. *Salmonella*. Dictionary of Microbiology and Molecular Biology. 3rd ed. Chichester: John Wiley and Sons; 1996. p.685-6.
5. Fitzgerald C, Sherwood R, Gheesling LL, Brenner FW, Fields PI. Molecular analysis of the rfb O antigen gene cluster of *Salmonella enterica* serogroup O:6,14 and development of a serogroup-specific PCR assay. *Appl Environ Microbiol* 2003;69(10):6099-105.
6. Voetsch AC, Van Gilder TJ, Angulo FJ, Farley MM, Shallow S, Marcus R, et al. Emerging Infections Program FoodNet Working Group. FoodNet estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal *Salmonella* infections in the United States. *Clin Infect Dis* 2004;38 Suppl 3:S127-34.
7. Suar M, Jantsch J, Hapfelmeier S, Kremer M, Stallmach T, Barrow PA, et al. Virulence of broad- and narrow-host-range *Salmonella enterica* serovars in the streptomycin-pretreated mouse model. *Infect Immun* 2006;74(1):632-44.

8. McClelland M, Sanderson KE, Spieth J, Clifton SW, Latreille P, Courtney L, et al. Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. *Nature* 2001;413(6858):852-6.
9. Morgan E, Bowen AJ, Carnell SC, Wallis TS, Stevens MP. SiiE is secreted by the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium pathogenicity island 4-encoded secretion system and contributes to intestinal colonization in cattle. *Infect Immun* 2007;75(3):1524-33.
10. Srivatsan A, Wang JD. Control of bacterial transcription, translation and replication by (p)ppGpp. *Curr Opin Microbiol* 2008;11(2):100-5.
11. Vazquez-Torres A, Jones-Carson J, Bäuml AJ, Falkow S, Valdivia R, Brown W, et al. Extraintestinal dissemination of *Salmonella* by CD18-expressing phagocytes. *Nature* 1999;401(6755):804-8.
12. Ohl ME, Miller SI. *Salmonella*: a model for bacterial pathogenesis. *Annu Rev Med* 2001;52(1):259-74.
13. Bolton AJ, Osborne MP, Stephen J. Comparative study of the invasiveness of *Salmonella* serotypes Typhimurium, Choleraesuis and Dublin for Caco-2 cells, HEp-2 cells and rabbit ileal epithelia. *J Med Microbiol* 2000;49(6):503-11.
14. Helms M, Ethelberg S, Mølbak K; DT104 Study Group. International *Salmonella* Typhimurium DT104 infections, 1992-2001. *Emerg Infect Dis* 2005;11(6):859-67.
15. Unsworth KE, Way M, McNiven M, Machesky L, Holden DW. Analysis of the mechanisms of *Salmonella*-induced actin assembly during invasion of host cells and intracellular replication. *Cell Microbiol* 2004;6(11):1041-55.
16. Raffatellu M, Wilson RP, Chessa D, Andrews-Polymenis H, Tran QT, Lawhon S, et al. SipA, SopA, SopB, SopD, and SopE2 contribute to *Salmonella enterica* serotype typhimurium invasion of epithelial cells. *Infect Immun* 2005;73(1):146-54.
17. Bäuml AJ, Tsois RM, Bowe FA, Kusters JG, Hoffmann S, Heffron F. The *pef* fimbrial operon of *Salmonella typhimurium* mediates adhesion to murine small intestine and is necessary for fluid accumulation in the infant mouse. *Infect Immun* 1996;64(1):61-8.
18. Bäuml AJ, Tsois RM, Heffron F. Contribution of fimbrial operons to attachment to and invasion of epithelial cell lines by *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun* 1996;64(5):1862-5.
19. Bäuml AJ, Tsois RM, van der Velden AW, Stojijkovic I, Anic S, Heffron F. Identification of a new iron regulated locus of *Salmonella typhi*. *Gene* 1996;183(1-2):207-13.
20. Zhou D, Chen LM, Hernandez L, Shears SB, Galán JE. A *Salmonella* inositol polyphosphatase acts in conjunction with other bacterial effectors to promote host cell actin cytoskeleton rearrangements and bacterial internalization. *Mol Microbiol* 2001;39(2):248-59. 21.
21. Lee CA, Silva M, Siber AM, Kelly AJ, Galyov E, McCormick BA. A secreted *Salmonella* protein induces a proinflammatory response in epithelial cells, which promotes neutrophil migration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(22):12283-8.
22. Raffatellu M, Chessa D, Wilson RP, Tükel C, Akçelik M, Bäuml AJ. Capsule-mediated immune evasion: a new hypothesis explaining aspects of typhoid fever pathogenesis. *Infect Immun* 2006;74(1):19-27.
23. Tükel C, Raffatellu M, Chessa D, Wilson RP, Akçelik M, Bäuml AJ. Neutrophil influx during non-typhoidal salmonellosis: who is in the driver's seat? *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006;46(3):320-9.
24. Mullins RD, Heuser JA, Pollard TD. The interaction of Arp2/3 complex with actin: nucleation, high affinity pointed end capping, and formation of branching networks of filaments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(11):6181-6.
25. Zierler MK, Galán JE. Contact with cultured epithelial cells stimulates secretion of *Salmonella typhimurium* invasion protein InvJ. *Infect Immun* 1995;63(10):4024-8.
26. Gentle I, Gabriel K, Beech P, Waller R, Lithgow T. The *Omp85* family of proteins is essential for outer membrane biogenesis in mitochondria and bacteria. *J Cell Biol* 2004;164(1):19-24.
27. Gerlach RG, Hensel M. Protein secretion systems and adhesins: the molecular armory of Gram-negative pathogens. *Int J Med Microbiol* 2007;297(6):401-15.
28. Gentschev I, Dietrich G, Goebel W. The *E. coli* alpha-hemolysin secretion system and its use in vaccine development. *Trends Microbiol* 2002;10(1):39-45.
29. Boekema BK, Van Putten JP, Stockhofe-Zurwieden N, Smith HE. Host cell contact-induced transcription of the type IV fimbria gene cluster of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Infect Immun* 2004;72(2):691-700.
30. Tükel C, Raffatellu M, Humphries AD, Wilson RP, Andrews-Polymenis HL, Gull T, et al. CsgA is a pathogen-associated molecular pattern of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium that is recognized by Toll-like receptor 2. *Mol Microbiol* 2005;58(1):289-304.
31. Gibson DL, White AP, Rajotte CM, Kay WW. AgfC and AgfE facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in *Salmonella enteritidis*. *Microbiology* 2007;153(Pt 4):1131-40.
32. Thanassi DG, Saulino ET, Hultgren SJ. The chaperone/usher pathway: a major terminal branch of the general secretory pathway. *Curr Opin Microbiol* 1998;1(2):223-31.
33. White AP, Gibson DL, Kim W, Kay WW, Surette MG. Thin aggregative fimbriae and cellulose enhance long-term survival and persistence of *Salmonella*. *J Bacteriol* 2006;188(9):3219-27.
34. Dorsey CW, Laarakker MC, Humphries AD, Weening EH, Bäuml AJ. *Salmonella enterica* serotype Typhimurium MisL is an intestinal colonization factor that binds fibronectin. *Mol Microbiol* 2005;57(1):196-211.
35. Tükel C, Akçelik M, de Jong MF, Simsek O, Tsois RM, Bäuml AJ. MarT activates expression of the MisL autotransporter protein of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *J Bacteriol* 2007;189(10):3922-6.
36. Chessa D, Winter MG, Nuccio SP, Tükel C, Bäuml AJ. *RosE* represses Std fimbrial expression in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Mol Microbiol* 2008;68(3):573-87.
37. Chessa D, Dorsey CW, Winter M, Bäuml AJ. Binding specificity of *Salmonella* plasmid-encoded fimbriae assessed by glycomics. *J Biol Chem* 2008;283(13):8118-24.
38. White AP, Gibson DL, Collinson SK, Banser PA, Kay WW. Extracellular polysaccharides associated with thin aggregative fimbriae of *Salmonella enterica* serovar enteritidis. *J Bacteriol* 2003;185(18):5398-407.
39. Ngwai YB, Adachi Y, Ogawa Y, Hara H. Characterization of biofilm-forming abilities of antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 on hydrophobic abiotic surfaces. *J Microbiol Immunol Infect* 2006;39(4):278-91.
40. Wilson RP, Raffatellu M, Chessa D, Winter SE, Tükel C, Bäuml AJ. The Vi-capsule prevents Toll-like receptor 4 recognition of *Salmonella*. *Cell Microbiol* 2008;10(4):876-90.
41. Henderson IR, Navarro-Garcia F, Desvaux M, Fernandez RC, Ala'Aldeen D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004;68(4):692-744.
42. Galán JE, Curtiss R 3rd. Virulence and vaccine potential of *phoP* mutants of *Salmonella typhimurium*. *Microb Pathog* 1989;6(6):433-43.
43. Ghigo JM, Wandersman C. Cloning, nucleotide sequence and characterization of the gene encoding the *Erwinia chrysanthemi* B374 PrtA metalloprotease: a third metalloprotease secreted via a C-terminal secretion signal. *Mol Gen Genet* 1992;236(1):135-44.
44. Koronakis E, Hughes C, Milisav I, Koronakis V. Protein exporter function and in vitro ATPase activity are correlated in ABC-domain mutants of HlyB. *Mol Microbiol* 1995;16(1):87-96.
45. Galán JE. *Salmonella* interactions with host cells: type III secretion at work. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17(1):53-86.

46. Bourzac KM, Guillemin K. Helicobacter pylori-host cell interactions mediated by type IV secretion. *Cell Microbiol* 2005;7(7):911-9.
47. Desvaux M, Parham NJ, Henderson IR. The autotransporter secretion system. *Res Microbiol* 2004;155(2):53-60.
48. Galán JE. Energizing type III secretion machines: what is the fuel? *Nat Struct Mol Biol* 2008;15(2):127-8.
49. Groisman EA, Ochman H. Pathogenicity islands: bacterial evolution in quantum leaps. *Cell* 1996;87(5):791-4.
50. Günzel D, Kucharski LM, Kehres DG, Romero MF, Maguire ME. The MgtC virulence factor of Salmonella enterica serovar Typhimurium activates Na(+),K(+)-ATPase. *J Bacteriol* 2006;188(15):5586-94.
51. Zhou D, Mooseker MS, Galán JE. Role of the S. typhimurium actin-binding protein SipA in bacterial internalization. *Science* 1999; 283(5410):2092-5.
52. Coombes BK, Coburn BA, Potter AA, Gomis S, Mirakhor K, Li Y, et al. Analysis of the contribution of Salmonella pathogenicity islands 1 and 2 to enteric disease progression using a novel bovine ileal loop model and a murine model of infectious enterocolitis. *Infect Immun* 2005;73(11):7161-9.
53. Monack DM, Detweiler CS, Falkow S. Salmonella pathogenicity island 2-dependent macrophage death is mediated in part by the host cysteine protease caspase-1. *Cell Microbiol* 2001;3(12):825-37.
54. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Francolini M, Rotta G, Bonasio R, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol* 2001;2(4):361-7.
55. Vazquez-Torres A, Xu Y, Jones-Carson J, Holden DW, Lucia SM, Dinauer MC, et al. Salmonella pathogenicity island 2-dependent evasion of the phagocyte NADPH oxidase. *Science* 2000;287(5458):1655-8.
56. Mirolid S, Rabsch W, Rohde M, Stender S, Tschäpe H, Rüssmann H, et al. Isolation of a temperate bacteriophage encoding the type III effector protein SopE from an epidemic Salmonella typhimurium strain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96(17):9845-50.
57. Lucas RL, Lee CA. Unravelling the mysteries of virulence gene regulation in Salmonella typhimurium. *Mol Microbiol* 2000;36(5):1024-33.
58. Chakravorty D, Hansen-Wester I, Hensel M. Salmonella pathogenicity island 2 mediates protection of intracellular Salmonella from reactive nitrogen intermediates. *J Exp Med* 2002;195(9):1155-66.
59. Beuzón CR, Méresse S, Unsworth KE, Ruiz-Albert J, Garvis S, Waterman SR, et al. Salmonella maintains the integrity of its intracellular vacuole through the action of SifA. *EMBO J* 2000;19(13):3235-49.
60. Blanc-Potard AB, Groisman EA. The Salmonella selC locus contains a pathogenicity island mediating intramacrophage survival. *EMBO J* 1997;16(17):5376-85.
61. Blanc-Potard AB, Solomon F, Kayser J, Groisman EA. The SPI-3 pathogenicity island of Salmonella enterica. *J Bacteriol* 1999;181(3):998-1004.
62. Morgan E, Campbell JD, Rowe SC, Bispham J, Stevens MP, Bowen AJ, et al. Identification of host-specific colonization factors of Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Mol Microbiol* 2004;54(4):994-1010.
63. Gerlach RG, Jäckel D, Stecher B, Wagner C, Lupas A, Hardt WD, et al. Salmonella Pathogenicity Island 4 encodes a giant non-fimbrial adhesin and the cognate type 1 secretion system. *Cell Microbiol* 2007;9(7): 1834-50.