



Charakterisierung des pathogenen Potenzials von *Campylobacter coli*-Clades

Sarah Beyer (1), Soroush Sharbati (2), Roland Bucker (3), Thomas Alter (1), Greta Gölz (1)

(1) Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, Freie Universität Berlin

(2) Institut für Veterinär-Biochemie, Freie Universität Berlin

(3) Klinische Physiologie/Ernährungsmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Hintergrund

Campylobacter spp. sind eine der Hauptursachen lebensmittelbedingter Gastroenteritiden beim Menschen. Ca. 11% der *Campylobacteriosen* werden durch *Campylobacter coli* (*C. coli*) Infektionen verursacht. *C. coli* wird phylogenetisch in verschiedene Clades unterteilt, wobei bei humanen Erkrankungen am häufigsten Stämme des Clade 1A nachgewiesen werden. Dagegen werden Stämme der Clades 2 und 3 seltener bei humanen Infektionen isoliert, obwohl sie in der Umwelt weit verbreitet sind. Das Ziel dieser Studie ist es, zu untersuchen ob *C. coli* Clade 3-Stämme ein geringeres pathogenes Potenzial als Clade 1A-Stämme aufweisen.

Methoden

Bakterielle Kulturen

- 17 *C. coli*-Stämme
 - Clades: 1A (n=8), 1C (n=2), 2 (n=2) und 3 (n=5)
- *C. jejuni* 81-176 (Kontrolle)
- Mikroaerobe Kultivierung (37°C)

Adhäsions- und Invasionsassay

- Infektion der intestinalen epithelialen Zelllinien HT-29/B6 & T84 (Human) mit Bakteriensuspension
- Invasion: anschließende Gentamicin Behandlung
- KBE Ermittlung: serielle Verdünnungsreihen auf Müller-Hinton-Blutagar

Zytotoxizität

- kolorimetrisches WST-1-Assay
- Bestimmung der nach Infektion verbleibenden metabolischen Aktivität der Wirtszellen (Absorptionsmessung)

Transepithelialer elektrischer Widerstand (TEER)

- Maß für die Integrität der epithelialen Barriere
- Messung des Widerstandes über einen Zellmonolayer (Transwellfilter)

Fazit

Diese Studie veranschaulicht, dass das Adhäsions- und Invasionsvermögen von *C. coli* nicht clade-spezifisch ist. Jedoch wiesen die Clade 3-Stämme ein höheres zytotoxisches Potenzial sowie eine stärkere

Ergebnisse

Zytotoxizität

Mit Clade 3 infizierte HT-29/B6 Zellen wiesen bereits 18 h nach Infektion eine starke Reduktion der metabolischen Aktivität auf, wohingegen eine vergleichbare Reduktion durch die Stämme anderer Clades erst nach 48 h messbar war (Abb. 1). Im Gegensatz dazu konnte eine Reduktion der metabolischen Aktivität von T84 Zellen ausschließlich durch Clade 3-Stämme und erst 48 h nach Infektion nachgewiesen werden.

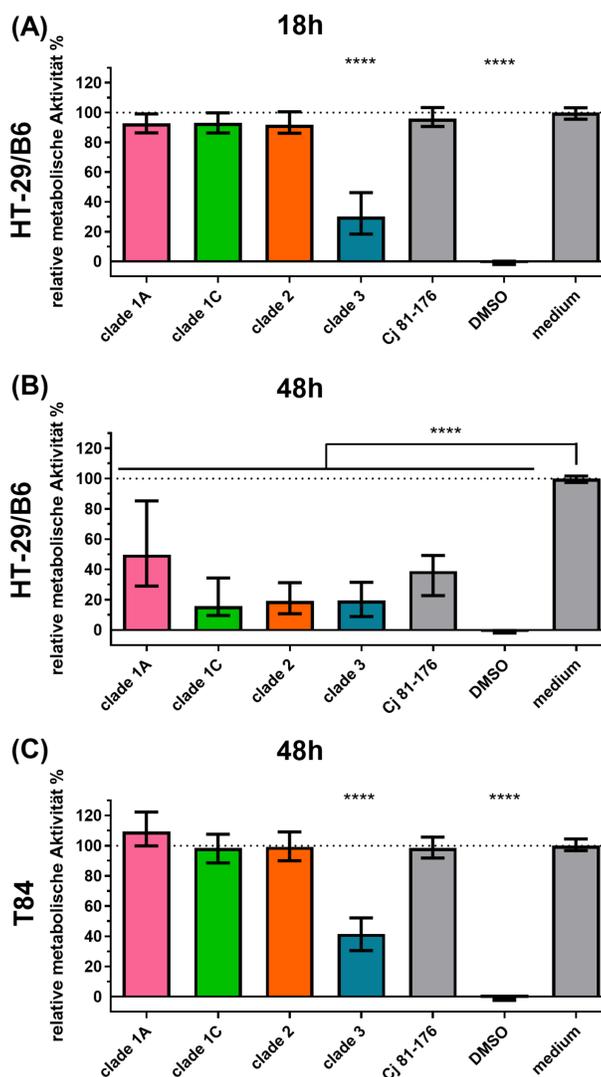


Abb. 1: Metabolische Aktivität von HT-29/B6 (A, B) und T84 (C) Zellen gemessen 18 h (A) und 48 h (B, C) nach *C. coli* Infektion (MOI = 100) relativ zu nicht infizierten Zellen (Medium). DMSO (Dimethylsulfoxid) und *C. jejuni* 81-176 dienen als Positivkontrolle. Die Resultate sind als Median mit Interquartilsabstand dargestellt. **** $p \leq 0.0001$ (Kruskal-Wallis Test)

Adhäsion und Invasion

Alle *C. coli*-Isolate adhären an bzw. invadieren in HT-29/B6 Zellen und T84 Zellen (nicht gezeigt) mit stamm-spezifischen Unterschieden (Abb. 2).

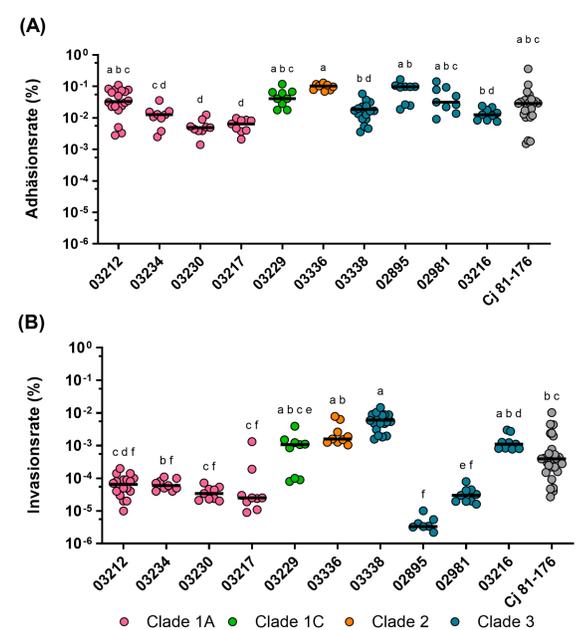


Abb. 2: Adhäsions- (A) und Invasionsrate (B) von *C. coli* und *C. jejuni* 81-176 in HT-29/B6 Zellen (MOI = 100). Die Raten wurden im Verhältnis zum Inokulum berechnet und sind als Median und Signifikanzen im Compact Letter Display dargestellt. (Kruskal-Wallis Test)

Epitheliale Barriere

Nur ein Clade 1A-Stamm (1/5) aber alle Clade 3-Stämme (4/4) induzierten nach 24 h eine signifikante Reduktion des TEER der T84-Monolayer (Abb. 3).

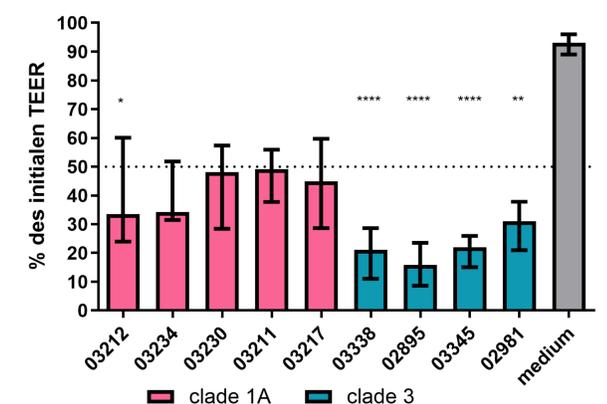


Abb. 3: Transepithelialer elektrischer Widerstand von T84-Monolayern 24 h nach *C. coli* Infektion (MOI = 10) im Verhältnis zum initial gemessenen TEER. Die Resultate sind als Median mit Interquartilsabstand dargestellt. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; **** $p \leq 0.0001$ (Kruskal-Wallis Test)

Schädigung der epithelialen Barrierefunktion im Vergleich zu den Clade 1A-Stämmen auf. Da die Clade 3-Stämme *in vitro* eher ein stärkeres pathogenes Potenzial als die Clade 1A-Stämme

zeigten, scheint der seltener Nachweis von *C. coli* Clade 3-Stämmen in humanen Erkrankungsfällen auf andere Faktoren als die hier untersuchten zurückzuführen sein.