AyTBUAP 9(36):1-21
Arias-Romero *et al*., 2024

http://doi.org/10.5281/zenodo.14372924

Mecanismos de invasión de *Salmonella enterica* no tifoidea: actualización de un paradigma

Tania L. Arias-Romero[1+], V. Denise Rangel-Morales[1+], Daniel Cortés-Avalos[1] iD, J. Antonio Ibarra-García[1]* iD

[1]Laboratorio de Genética Microbiana, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional "Lázaro Cárdenas", Alc. Miguel Hidalgo 11340, Ciudad de México, México.

[+]Estas dos autoras contribuyeron igual al desarrollo de este manuscrito por lo que ambas se consideran primer autor.

Email de autor para correspondencia: *jibarrag@ipn.mx

Recibido: 17 junio 2024. **Aceptado:** 21 octubre 2024

RESUMEN

Salmonella enterica es una de las bacterias más estudiadas de la microbiología, y su estudio ha dado lugar a una nueva rama, la microbiología celular. Esto porque el descubrimiento de sus mecanismos de virulencia ha mostrado cómo ocurren diversos procesos celulares durante la invasión celular y en la sobrevivencia intracelular de este patógeno, con lo cual hemos aprendido de rutas de señalización que no se sabía cómo ocurrían en células eucariotes. De tal forma, *S. enterica* es un paradigma para muchos microbiólogos clásicos y celulares. Sin embargo, en la pasada década ha habido nuevos estudios que nos hacen replantear algunos de los paradigmas. El objetivo de esta revisión es actualizar la información sobre los recientes avances en esta bacteria. El avance en los últimos años es asombroso, al punto de cambiar muchas de las ideas que se tenían en este campo.

Palabras clave: *Salmonella*; mecanismo de invasión; sistema de secreción tipo III; células epiteliales; vacuola contenedora de *Salmonella*; autofagia.

ABSTRACT

Salmonella enterica is one of the best characterized bacteria in microbiology. Its study has given birth to a new scientific branch called cellular microbiology. This because the discovery of this bacterium virulence mechanisms has shown how several cellular processes occur during the invasion mechanism

CC BY NC SA

and in the intercellular survival of this pathogen, with these we have learned about signal transduction pathways that were previously unknown in eukaryotic cells. In this way, *S. enterica* is a paradigm for many classic and cellular microbiologists. The aim of this review is to give an update on the recent advances of this bacterium. The recent advances are astonishing, to the point of changing ideas in this field.

Keywords: *Salmonella*; invasion mechanism; type III secretion system; epithelial cells; *Salmonella*-containing vacuole; autophagy.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por *Salmonella* no tifoidea (SNT) pueden causar padecimientos graves o mortales en grupos susceptibles, como niños, adultos mayores y personas inmunocomprometidas y es considerada por la Organización Mundial de la Salud como uno de los 4 principales causantes de enfermedades diarreicas en el mundo [1, 2, 3]. Esta bacteria y sus mecanismos de virulencia son paradigmáticos en el conocimiento general de las vías de invasión bacterianas, ya que marcaron el inicio de una nueva rama de la microbiología, la "microbiología celular" [2]. Esta revisión tiene la finalidad de actualizar la información sobre los mecanismos de invasión de *Salmonella enterica*, en particular la invasión a células epiteliales.

Generalidades de *Salmonella*

El género *Salmonella* pertenece al filo de las Proteobacterias, a la clase de las Gammaproteobacterias y a la familia Enterobacteriaceae. Fue originalmente aislada a partir de bazo y ganglios mesentéricos de una persona que falleció debido a esta afección en 1880 [3, 4]. Son bacterias Gram-negativas con forma de bacilo de 1-2 µm de largo por 0.5 µm de ancho. Al poseer flagelos perítricos la mayoría son móviles, casi nunca fermentan la lactosa o sacarosa y producen ácido sulfhídrico (H_2S). Son resistentes a productos químicos como el verde brillante, el tetrationato de sodio y el desoxicolato de sodio, facilitando su aislamiento e identificación [4]. La clasificación taxonómica más reciente divide el género *Salmonella* en dos especies, *S. enterica* y *S. bongori*. Identificar los serotipos es esencial para conocer los reservorios o los alimentos que sirven de vehículo, evaluar su gravedad, resistencias, detección de brotes e infecciones esporádicas [5].

Epidemiología en México y el Mundo

En un análisis reciente sobre la incidencia de esta bacteria en todo el Mundo se describe que en el 2021 hubo 153 millones de casos, 91.28% por la ingestión de alimentos contaminados y 8.72% por otras causas, de estos hubo 57,000 muertes ocasionadas por *Salmonella* no tifoidea

CC BY NC SA

(SNT) [6, 7]. Mientras que en Europa ha habido un aumento, en EEUU y México se ha observado una disminución en la incidencia. Entre 1968 y 2018 se identificaron 216 serotipos diferentes de *S. enterica* en el país, siendo los más prevalentes: Enteritidis, Typhimurium, Anatum, Agona y Meleagridis [7, 8]. Entre el 2010 y el 2021 el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de la Dirección General de Epidemiología (SINAVE-DGE) reportó 975,321 casos por consumir alimentos de origen vegetal y los estados con mayor incidencia son Chiapas y Veracruz [6]. De acuerdo con el SINAVE-DGE en 2019, las SNT muestran una incidencia estacional, con un aumento en los meses de mayo y junio, alcanzando un máximo en julio y declinando a partir de agosto [7]. Esto se puede deber a las altas temperaturas y a la escasez de agua. En este sentido, sería ideal realizar estudios genómicos para complementar el monitoreo y favorecer la prevención y el control de microorganismos que generan brotes epidemiológicos, por lo que, este tipo de estudios están revolucionando la vigilancia epidemiológica y deberían tener un mayor uso [8, 9]. A este respecto, y con los análisis que se han hecho recientemente, se sabe que la secuencia tipo (ST, por sus siglas en inglés) predominante en México es la ST213, mientras que a nivel mundial predomina la ST19 [9]. Este ST indica que "las cepas de *S.* Typhimurium ST213 aisladas en América del Norte tienen características notables como la falta del plásmido pSTV (también llamado pSLT, ver más adelante) asociado a la virulencia, que se distribuye ampliamente en el serovar Typhimurium; la presencia predominante de plásmidos pertenecientes a la familia IncC; y un perfil multirresistente (MDR), incluida la resistencia a las cefalosporinas (antibióticos) de tercera generación como la ceftriaxona, el tratamiento de elección para la gastroenteritis aguda o las infecciones invasivas complicadas" [9]. Hasta donde sabemos, tanto la COFEPRIS como el SENASICA continúan realizando este tipo de estudios y esperemos pronto haya la difusión de sus resultados.

Síntomas clínicos

La gastroenteritis es la forma más común de la salmonelosis causada por las SNT. Se adquiere por vía oral y los alimentos de origen animal son la principal fuente de aislamiento (42.6%). La bacteria afecta al intestino delgado (en el íleon) y la primera porción del intestino grueso (particularmente el ciego). Generando síntomas como náuseas, vómito, diarrea acuosa, fiebre, espasmos intestinales, cefalea, mialgias y artralgias después de 6 a 48 horas del consumo de alimento o agua contaminados [3, 4, 8]. Por otro lado, *Salmonella* Typhi causa fiebre tifoidea. Tras un periodo de incubación de 10 a 14 días, el paciente desarrolla fiebre de 39 a 40 °C, bradicardia, cefalea intensa, estreñimiento, dolor abdominal, náusea, vómito, anorexia, mialgias, tos, malestar general y ocasionalmente diarrea con moco y sangre [4]. Algunas complicaciones como hemorragias gastrointestinales, perforación intestinal y la

CC BY NC SA

encefalopatía tifoidea, seguido de la muerte afectan el 10% al 15% de los pacientes no tratados [10]. *S.* Paratyphi causa la fiebre paratifoidea, con un cuadro clínico más leve. La tasa de letalidad de la fiebre tifoidea oscila entre el 1% y el 4%; siendo diez veces mayor en menores de cuatro años. En casos no tratados, las tasas de letalidad pueden aumentar hasta el 10-20% [10]. Las infecciones invasivas por SNT son especialmente importantes en poblaciones inmunodeprimidas, causan una mortalidad del 20-30% en menores de cinco años [1]. Lo anterior pues al estar comprometido el sistema inmune en estas personas, permite que la bacteria pueda no solo ingresar fácilmente sino su fácil diseminación de forma sistémica. Hay que considerar que desde 2017 la Organización Mundial de la Salud incluyó a *Salmonella* como un patógeno de alta prioridad por su multidrogorresistencia (MDR) [11], en especial en países de ingresos medianos y bajos. Por tanto, es de extrema relevancia no solo entender cómo actúa este patógeno, sino también estudiar y prevenir la diseminación de especies con MDR.

Mecanismo de virulencia

Para la colonización del intestino *S.* Typhimurium utiliza diversos factores de virulencia, como flagelos, adhesinas, sistemas de secreción tipo III (T3SS, por sus siglas en inglés) y efectores afines, para invadir las células intestinales y evadir las respuestas huésped [2]. A continuación, se describe el principal y más estudiado mecanismo de patogenicidad de *Salmonella*, la invasión celular. Esta bacteria es capaz de invadir a las células epiteliales por dos vías: el mecanismo de "disparo" ("trigger") y el mecanismo de "zipper", siendo el primero el más eficiente, conocido y estudiado. A continuación, se describen ambos.

Mecanismo de invasión tipo *trigger*

Tras la ingesta de las bacterias, estas enfrentan la acidez estomacal y llegan al intestino delgado. El mecanismo de "trigger" se llama así porque asemeja a "disparar" proteínas de la bacteria a la célula huésped y el cambio observado en la célula es tan dramático que asemeja el resultado literal de un disparo [12]. Este mecanismo es mediado por el T3SS codificado en la isla de patogenicidad 1 (T3SS-1 o SPI-1) [13, 14]. Brevemente, los genes de virulencia de *Salmonella* implicados en la patogénesis están codificados en regiones denominadas SPI [15]. Las SPI´s se caracterizan por tener un contenido de DNA diferente al resto del genoma (en el porcentaje de G+C y el uso de codones), están flanqueadas por repeticiones directas, codifican genes de factores de movilidad como integrasas, transposasas y elementos de inserción y pueden representar regiones inestables de DNA [16]. Se ha postulado que estos genes fueron adquiridos por transferencia horizontal de genes y que han contribuido en la evolución de *Salmonella* [15]. Hasta ahora se han identificado 23 SPI's en los distintos serotipos de esta bacteria, 12 de ellas presentes en *S.*

CC BY NC SA

Typhimurium (SPI-1 a la 6, 9, 11 a la 14 y 16) [17]. De éstas, la SPI-1 ha sido la más estudiada, es necesaria para la virulencia y presenta un papel activo en la invasión [citado por 15]. Los T3SS también son conocidos como "jeringas moleculares" o "complejos de agujas", porque asemejan una aguja por medio de la cual pasan, o se *translocan*, proteínas de la bacteria hacia el citosol de la célula huésped (Figura 1). Estas proteínas tienen diferentes efectos en la célula huésped por este motivo se acuñó el nombre de proteínas "efectoras" o "efectores". El complejo de aguja del T3SS consta de una base cilíndrica de anillos similar a la del flagelo [18]. La base inicia en el aparato de exportación, compuesto por las proteínas InvA, SpaP, SpaQ, SpaR y SpaS (Figura 1). Tres proteínas conforman la base del aparato de secreción: InvG, PrgH y PrgK. La proteína PrgI compone la aguja y su longitud es controlada por InvJ. Por otro lado, PrgJ forma una varilla dentro del cuerpo basal. La punta de la aguja está cubierta por SipD [19, 20]. Al entrar en contacto con la célula huésped, SipD forma una plataforma para el translocón compuesto por SipB y SipC, a través del cual se translocan efectores al interior de la célula huésped [20, 21]. A continuación, varios efectores originan cambios en el citoesqueleto de la célula huésped. Entre estos está SopB (o SigD en algunas cepas), codificado en la SPI-5 [22, 23], la cual altera la membrana, al activar una Rho-cinasa que lleva a reordenamientos de actina [24]. También recluta a AnxA2, como una plataforma para estos reordenamientos. Este efector también influye en la capacidad de la bacteria de transformar las células epiteliales asociadas al folículo en células M, a través de la activación de la señalización de Wnt/β-catenina. La inducción de la señalización de Wnt conduce a la activación del ligando del receptor-activador de NF-κB (RANKL, por sus siglas en inglés) y de su receptor RANK, necesarios para el desarrollo de las células M y la invasión de *Salmonella* [24].

El reordenamiento del citoesqueleto también es ocasionado por los efectores SopE y SopE2, esto tras activar a las GTPasas tipo Rho Rac1 y Cdc42, a través de la actividad de factor intercambiador de nucleótidos de guanina (GEF, por sus siglas en inglés). SopE y SopE2 desencadenan la polimerización localizada de la actina al activar factores promotores de la nucleación, como el complejo regulador WAVE (WRC, por sus siglas en inglés), el cual activa proteínas relacionadas a la actina (Arp2/3, por sus siglas en inglés). WAVE es la principal maquinaria de nucleación de actina, e impulsa la formación de redes ramificadas de actina que forman el "*ruffle*", el ondulamiento característico en la membrana de la célula (Figuras 2 y 3) asociado a la entrada de *Salmonella* [25, 26]. La interacción de las GTPasas Rac1 y Arf1 es necesaria para la actividad del WRC, lo reclutan a la membrana y activan Arp2/3 [25]. *Salmonella* es capaz de explotar las redes regulatorias del huésped para activar a Arf1 y el WRC [27]. Arf1 es reclutado a la membrana plasmática por el GEF celular que apertura el sitio de unión al nucleótido Arf (ARNO, por sus siglas en inglés). ARNO se

CC BY NC SA

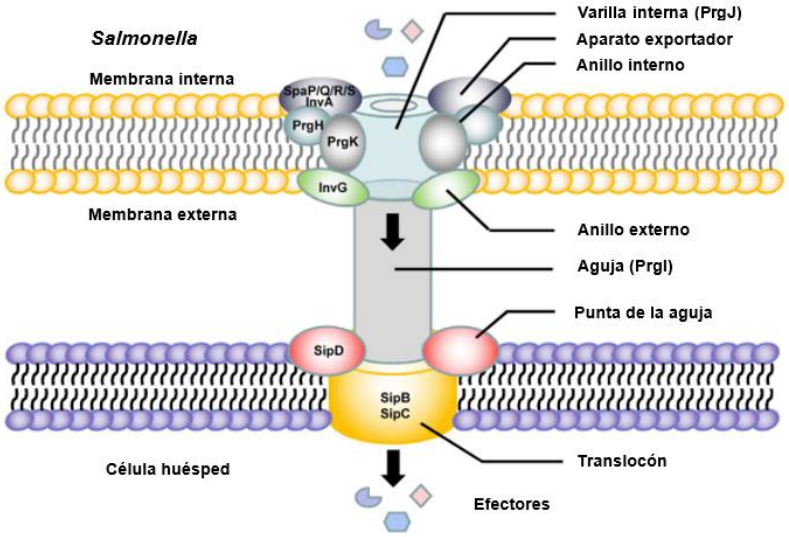

Figura 1. Diagrama del T3SS-1 de *Salmonella* Typhimurium. Este sistema de secreción está compuesto por una base cilíndrica de múltiples anillos. La proteína PrgI forma la aguja, PrgJ la varilla interna dentro del cuerpo basal, en la punta de la aguja SipD que interactúa con SipB y SipC, las cuales forman el translocón para formar un canal por el cual serán translocados los efectores al interior de la célula huésped. Las proteínas que forman cada parte del sistema se señalan por líneas o encerradas en óvalos. Tomada y modificada de [20].

mantiene autoinhibido en el citoplasma, pero Arf6 unido a GTP y fosfolípidos ácidos como el fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato [PI(3,4,5)P_3] lo activan [28]. La producción de PI(3,4,5)P_3 es activada por SopB, pero Arf6 es activada por los GEF celulares BRAG y EFA6 [29]. Estos factores del huésped se activan a través de la interacción con el fosfatidilinositol 4,5-bifosfato [PI(4,5)P_2] (Figuras 2 y 3) [25].

La internalización bacteriana también es promovida por SipA y SipC. Por un lado, SipA inhibe la despolimerización de la actina y aumenta su agrupamiento; mientras que SipC la agrupa y nuclea e interactúa con los filamentos intermedios. Tras la entrada de la bacteria, se restablece la estructura del citoesqueleto, GTPasas como Rac1 y Arf1 son desactivadas por proteínas activadoras de GTPasas (GAP, por sus siglas en inglés). *Salmonella* codifica su propia GAP, el efector SptP, que al ser translocada devuelve a la célula al estado de reposo (Figura 3) [24, 25].

Se ha sugerido que el ensamblaje de actina impulsado por el WRC requiere ciclos de activación e inactivación de Arf (Figura 3) [31]. Por lo tanto, la alteración de la membrana inducida por *Salmonella* representa una fascinante interacción entre las proteínas reguladoras tanto del huésped como del patógeno, los mecanismos de control positivo y negativo, y las GTPasas Arf y Rac1 [25].

CC BY NC SA

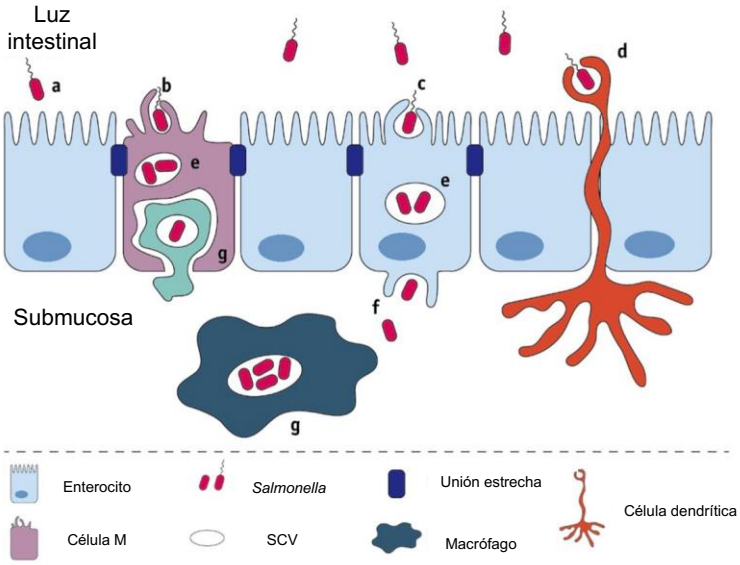

Figura 2. Modelo de colonización e invasión de *S.* Typhimurium a células epiteliales del intestino humano. Tras llegar al epitelio intestinal (a) *Salmonella* secreta efectores que le permiten colonizar células M (b) y células epiteliales (c). En el citoplasma la bacteria se localiza dentro de la SCV (e) que posteriormente la conduce a la submucosa (f). Alternativamente la bacteria puede internalizarse a través de las células dendríticas (d), o de los fagocitos o neutrófilos (g). Tomado y modificado de [30].

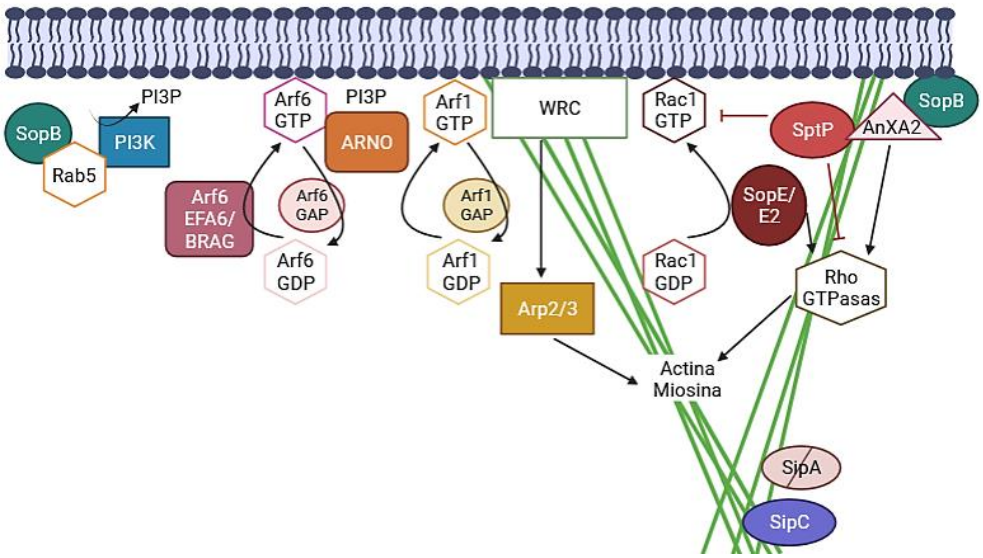

Figura 3. Vías de señalización del huésped manipuladas por *Salmonella* durante la invasión de células epiteliales. En la SCV, y en la membrana plasmática, SopB recluta proteínas y enzimas que inducen el reordenamiento del citoesqueleto de actina, como Rab5 y la PI-3-K, para generar PI-(3,4,5)-P_3. También recluta a la proteína AnxA2 a la membrana, la cual funciona como plataforma para los reordenamientos de actina, además, este efector activa los reordenamientos de actina dependientes de

CC BY NC SA

la Rho-cinasa. Por otro lado, Arf6 es activado por diferentes GEF como EFA6 y BRAG que estimulan el intercambio de GDP unido a Arf6 por GTP. Arf6 activa, junto con PI-(3,4,5)-P_3, recluta al GEF ARNO del huésped que, a su vez, activa a Arf1. En consecuencia, Arf1 se ancla a la membrana plasmática, donde junto a Rac1 activado por SopE trabajan para reclutar y activar al complejo WAVE para inducir la polimerización de los filamentos de actina dependiente del complejo Arp2/3, para promover la captación bacteriana en células no fagocíticas. Posteriormente, Arf1 puede ser inactivado por las proteínas activadoras de GTPasas celulares (GAP). Los efectores SipA y SipC promueven la invasión bacteriana a través de sus funciones de agrupación de actina. Es posible que SipA sea degradado (potencialmente por la caspasa 3) para su activación. Por otro lado, SptP invierte la activación de las Rho GTPasas restableciendo la arquitectura de las células epiteliales tras la entrada bacteriana. Tomada y modificada de [24, 25].

Se cree que el ondulamiento de la membrana inducido por *Salmonella* se debe a la fuerza motriz de la internalización, pero si se elimina WRC en cultivos de fibroblastos con RNAi, el "*ruffle*" de la membrana desaparece por completo, pero continua la invasión [26]. El complejo WASH [26], similar a WRC [25], promueve la polimerización de actina dependiente de Arp2/3 en endosomas y lisosomas. Sin embargo, WASH se acumula en los sitios de entrada de *Salmonella* en los fibroblastos, y su eliminación da lugar a una alteración en la invasión de *Salmonella* [26]. Faltaría determinar si WASH tiene una función similar en la invasión de *Salmonella* así como los efectores que revierten su activación [25].

En resumen, los genes de SPI-1 desempeñan un papel importante en el contacto de *Salmonella* con las células del huésped, en su invasión y colonización. Sin embargo, tienen más funciones en la respuesta inmunitaria de las células del huésped [20, 32]. Esta revisión abordará más adelante un poco de la respuesta inmune del huésped.

Mecanismo de invasión tipo *zipper*

Además del mecanismo de invasión ya mencionado, también se ha demostrado el papel de las proteínas de la membrana externa (OMP, por sus siglas en inglés) como moléculas de adhesión y factores de virulencia en diferentes bacterias. En *Salmonella*, estas proteínas desencadenan la respuesta inmune innata y adaptativa. Se ha demostrado que Rck y PagN, ambas OMP's de *Salmonella*, pueden inducir la invasión celular [12]. Rck promueve la adhesión e internalización de perlas recubiertas o de cepas de *E. coli* no invasivas que la expresan en su superficie. Su unión es inhibida por Rck soluble e induce discretos reordenamientos de la membrana. Estos hallazgos demuestran que Rck induce un mecanismo de entrada tipo *zipper* (Figura 2); así, *Salmonella* es capaz de inducir mecanismos *zipper* y *trigger*. El proceso tipo *zipper* requiere la activación de la proteína tirosin-cinasa y de la fosfoinositol 3-cinasa de clase I, que activan a Akt, Rac1 y Cdc42, promoviendo el complejo Arp2/3 y polimerizando la actina [12]. Además, se ha identificado al factor de crecimiento

CC BY NC SA

epidérmico como el receptor necesario para la adhesión e internalización por Rck [33]. Por otro lado, PagN es una OMP conservada en *Salmonella* [34]. Utiliza proteoglicanos de heparina para invadir células de mamíferos [35] y su sobreexpresión en una cepa de *E. coli* no invasiva induce la invasión [12] con la integrina β1 que actúa como correceptor. Esto se demostró al inhibir la invasión en células pgsA-745 con un anticuerpo anti-integrina β1 [36]. También se demostró que la fosforilación de la tirosina y la PI-3-K de clase I son cruciales para la internalización dependiente de PagN. Así, PagN de *S.* Typhimurium induce la invasión celular a través de un mecanismo tipo *zipper* [36].

Se ha planteado que Rck y PagN permiten la invasión de *Salmonella* en los enterocitos por el lado basolateral [37]. Es posible que la invasión inicial de *Salmonella* por el lado apical induzca una redistribución de HSPG (proteoglicanos de heparano sulfato), integrinas β1 y EGFR en la superficie celular, permitiendo la invasión mediada por PagN y Rck [36]. El siguiente paso será investigar estas hipótesis con modelos de organoides como cultivo *in vitro* del epitelio intestinal primario [36].

Reordenamiento del citoesqueleto e inflamación del intestino

La inflamación en el tracto intestinal da una ventaja al crecimiento de las SNT, mejorando la transmisión bacteriana. Los efectores de SPI-1 o regulados por ésta (SopE, SopE2, SopB, SipA, SipC y SopA) contribuyen a la inflamación intestinal (Figura 4) estimulando la producción de la citocina IL-8 a través de las vías de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK, por sus siglas en inglés) y NF-κB, desestabilizando las uniones estrechas y estimulando la migración transepitelial de los neutrófilos hacia la luz intestinal [38]. Los receptores tipo Toll (TLR) se activan tras la detección del LPS, que activa los macrófagos y el aumento de su destrucción por el fagosoma, así como la activación de los genes de las caspasas inflamatorias [39]. La inflamación también es inducida por las caspasas 1, 4 y 5 en células humanas. La entrada al citoplasma de la proteína flagelar FliC y de la proteína PrgJ del T3SS-1 activan a la caspasa 1 en los macrófagos, liberando las citocinas IL-18 e IL-1β, promoviendo la liberación de IL-17 e IL-22 en las células T, amplificando así la inflamación. La proteína del translocón SipB se inserta en la membrana plasmática y puede migrar a las mitocondrias; generando daños que podrían contribuir a la activación de la caspasa 1 [24].

Además, SopE activa a la caspasa 1 en las células del estroma, lo que provoca la inflamación intestinal, como resultado de la reorganización de la actina. Las caspasas 4 y 5 pueden tener un papel en la inflamación y la restricción de las SNT, activadas por el LPS citoplásmico, que puede generarse por la desestabilización de la SCV en las células epiteliales o por otro mecanismo de transporte desconocido [24].

CC BY NC SA

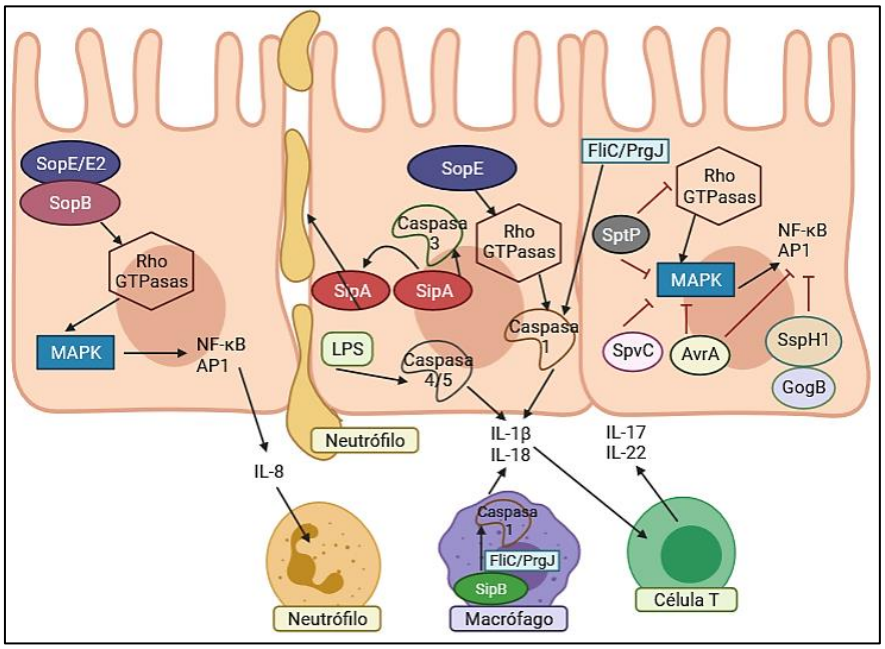

Figura 4. La inflamación inducida por *Salmonella* favorece la transmisión del patógeno. La activación de las Rho GTPasas por los efectores SopE, SopE2 y SopB induce las vías de MAPK, activando NF-κB y AP1, lo que estimula la producción de IL-8 promoviendo la migración transepitelial de neutrófilos hacia el lumen intestinal. SipA activa a la caspasa 3 y es escindida posteriormente por esta proteasa; promoviendo la migración de los neutrófilos. La caspasa 1 es activada por FliC, PrgJ y posiblemente por el efector SipB en los macrófagos, estimulando la liberación de IL-1β e IL-18. La activación por SopE de las Rho GTPasas también activa a la caspasa 1. El LPS intracelular activa a las caspasas 4 y 5, liberando IL-1β e IL-18, que promueven la síntesis de IL-17 e IL-22 por las células T y amplifican la inflamación. Estos y otros cambios promueven el crecimiento y la transmisión de *Salmonella* spp. en el lumen intestinal. Las respuestas MAPK se ven amortiguadas por SptP, SpvC, AvrA, SspH1 y GogB, pero la base de esto no se conoce del todo. Tomada y modificada de [24].

En resumen, los efectores del T3SS-1 y otros determinantes de virulencia no relacionados con las SPI's estimulan la inflamación al provocar respuestas de señalización que promueven la secreción de fluidos y la afluencia de leucocitos, desencadenando finalmente la colitis que es esencial para el crecimiento y transmisión de la bacteria [24].

Formación de la SCV

Este proceso amerita *per se* una revisión aparte, por lo que solo mencionaremos algunas características de ésta. Una vez dentro del citoplasma, *Salmonella* se localiza dentro de una vacuola denominada vacuola contenedora de *Salmonella* (SCV, por sus siglas en inglés). Durante la invasión, la SCV adquiere marcadores endosomales y pasa de una "SCV

CC BY NC SA

temprana" a una "SCV tardía" permitiendo que *Salmonella* sobreviva y se replique intracelularmente [21]. La fusión membranal para la formación y maduración de la SCV ocurre por la acción de varios efectores, destacando SopB, al modular la naturaleza dinámica de los PI [40].

En la SCV, el T3SS-2 tendrá su mayor contribución en la supervivencia intracelular de *Salmonella* al translocar efectores a la célula. Las SCV transitan a la membrana basolateral y liberan a las bacterias a la submucosa. Estas bacterias se internalizan en fagocitos para volver a formar una SCV, donde las SPI-2 y SPI-3 desempeñarán un papel importante. Por último, los fagocitos infectados pueden diseminarse por la linfa y la sangre y diseminar a la bacteria. Alternativamente, las células dendríticas pueden embeber a las bacterias de la submucosa y migrar generando una enfermedad sistémica [41].

Escape de la SCV

Los patógenos intracelulares se clasifican como vacuolares o citosólicos en función del nicho que ocupan dentro de las células eucariotas. Los patógenos vacuolares sobreviven en un compartimento unido a la membrana que se modifica evitando la degradación por los lisosomas. Por el contrario, los patógenos citosólicos escapan y se replican en el citosol. Esta clasificación histórica se ha complicado por las recientes pruebas de que algunos patógenos, como *S.* Typhimurium pueden habitar en ambos entornos [42].

Para que se generen las poblaciones citosólicas es necesario que se formen inflamosomas, complejos de señalización que reconocen componentes como el LPS, la flagelina o las proteínas del T3SS-1, induciendo a las caspasas 1 y 11 (Figura 5) que lleva a la producción de citocinas inflamatorias (IL-1α, IL-1β e IL-18), generando muerte celular [43]. En células epiteliales, las subpoblaciones intracelulares de *Salmonella*, inicialmente en vacuolas acceden al citosol y proliferan a altas tasas y se denomina hiperreplicación [42, 43]. En un tiempo medio de duplicación de ≥95 min se observó que algunas bacterias se replicaban a un ritmo mucho mayor, con un tiempo de ~20 min. La incidencia de estas bacterias hiperreplicantes que alcanza una tasa de >50 bacterias por célula aumentó, representando el 11 ± 4.2% de las células infectadas a las 10 h p.i. (post infección) La microscopía confocal indicó que muchas de estas bacterias no se encontraban en una SCV madura, y otros experimentos demostraron que al menos un tercio de las bacterias hiperreplicantes eran citosólicas [44]. En el epitelio intestinal *Salmonella* citosólica experimenta hiperreplicación que conduce a una expulsión inducida de enterocitos infectados [45]. Este proceso *in vivo* está regulado por componentes del inflamosoma, como las proteínas inhibidoras de apoptosis neuronal 1-6 (NAIP1-6), la proteína 4 que contiene el dominio CARD de la familia NLR (NLCR4) y las caspasas 1/11 [46]. En pruebas *in vivo* el número de bacterias citosólicas hiperreplicantes se mantiene en una media de 30-40 por célula infectada, en lugar de

CC BY NC SA

las más de 100 observadas en la mayoría de los modelos *in vitro* [47].

Es importante enfatizar que *S.* Typhimurium utiliza el T3SS-1 para dañar a la SCV. Curiosamente, este daño puede ser reparado por las proteínas de autofagia [49]. Métodos como la permeabilización selectiva con digitonina pueden identificar esta subpoblación. Así, las bacterias en la SCV pueden tomar uno de los dos caminos: (1) permanecer en la SCV y replicarse lentamente; o bien (2) salir y replicarse rápidamente en el citosol (Figura 5).

La salida de las bacterias de la SCV al citosol depende de la pérdida de integridad en la membrana vacuolar. A diferencia de muchos patógenos Gram-positivos, los Gram-negativos carecen de toxinas formadoras de poros, aunque pueden producir deacilasas y otras lipasas que alteran la bicapa lipídica [50]. Otro mecanismo de daño a la membrana es causado por la inserción del translocón en la membrana eucariota [51]. La perforación de la membrana vacuolar puede provocar daños en ausencia de cualquier efector [52]. Además, distintas proteínas del translocón de varios T3SS afectan la estabilidad de la membrana y el destino de las bacterias intracelulares. El daño a la membrana de la SCV asociado al T3SS-1 ha sido corroborado por otros estudios [53].

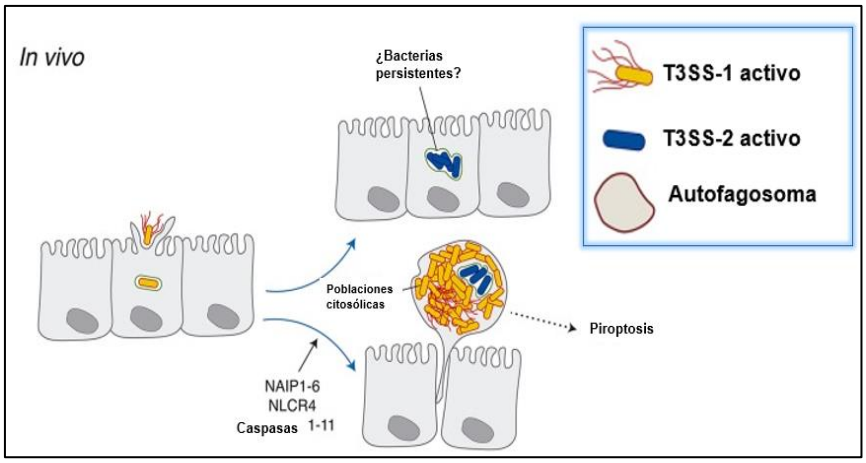

Figura 5. Poblaciones citosólicas e intravacuolares de *Salmonella* y muerte celular como respuesta del huésped. La expulsión de las bacterias intravacuolares es inducida por las proteínas NAIP 1-6, NLCR4 y las caspasas 1-11. En los modelos *in vivo* existe un menor número de bacterias hiperreplicantes por célula que en modelos *in vitro*, probablemente por bacterias intravacuolares persistentes. La célula epitelial altamente infectada sufre una lisis de tipo inflamatoria inducida por la activación de la caspasa 1, la cual a su vez estimula la liberación de la IL-18. Alternativamente, la exclusión de células altamente infectadas también se puede llevar a cabo por la vía caspasa 1/NAIP/NLRC4. Tomada y modificada de [48].

CC BY NC SA

La hiperreplicación de las bacterias conduce a la destrucción de la célula epitelial infectada y a lisis celular inflamatoria (piroptosis), inducida por la caspasa 1 e IL-18 [43]. Se ha especulado que *S.* Typhimurium "controla" y atenúa la maquinaria del inflamosoma, para atenuar su crecimiento intracelular preservando la integridad de la célula infectada y asegurando la replicación y transmisibilidad. Por otro lado, la extrusión de células fuertemente infectadas y la persistencia en algunas células de la barrera epitelial parece ser doblemente beneficiosa al liberar bacterias al lumen intestinal, aumentando la reinfección y propagación. Sin embargo, la interacción de las bacterias citosólicas con los componentes del inflamosoma sigue sin ser clara. Las células epiteliales utilizan la caspasa 11 para responder al LPS en el citosol, pero la fuente exacta de este componente *in vivo* es desconocida [43].

Muerte celular

El epitelio intestinal se renueva cada 3 a 5 días. Las células epiteliales se desprenden en la punta de las vellosidades en el intestino delgado o la superficie del colon, desde una región denominada "zona de exclusión" [54]. Estas células epiteliales mueren por anoikis, una forma apoptótica de muerte celular. Las *Salmonella* citosólicas inducen la muerte de las células epiteliales [55], liberando bacterias al lumen. La distinción clave entre la extrusión homeostática y la inducida por *Salmonella* es el tipo de muerte celular: apoptosis o piroptosis, respectivamente (Figura 5) [42]. La exclusión epitelial inducida por *Salmonella* se asocia con la pérdida de la integridad de la membrana plasmática y la liberación de la citocina proinflamatoria IL-18 [56]. Así mismo, la inducción de piroptosis dependiente de la caspasa 11 en los macrófagos de ratón requiere también de proteínas de unión a guanilato, que promueven la lisis de las vacuolas con patógenos [57]. La proteína de unión a guanilato-1 se expresa en las células epiteliales intestinales y regula la apoptosis, pero se desconoce si es necesaria para la piroptosis inducida por *Salmonella.* De igual manera, un mecanismo dependiente de la caspasa 1/NAIP/NLRC4 media la exclusión de los enterocitos infectados por *Salmonella* [46]. Por lo tanto, se requieren al menos de dos vías mediadas por el inflamosoma para la expulsión de las células infectadas con *Salmonella* citosólica [42].

Población en latencia

Recientemente se ha identificado otra subpoblación de *S.* Typhimurium en células epiteliales, ésta presenta un fenotipo distinto al de las subpoblaciones vacuolares o citosólicas documentadas anteriormente. Esta subpoblación entra en un estado de latencia en un compartimento vacuolar distinto a la SCV expresando factores de virulencia de la SPI-2. En este sentido, los efectores del T3SS-2 y la proteasa Lon son indispensables para su generación, mientras que las enzimas SpoT y RelA la regulan negativamente. Este hecho cobra gran relevancia porque podría

CC BY NC SA

proporcionarle a *S.* Typhimurium una estrategia alternativa para la patogenicidad y su persistencia [58].

Enseñanzas obtenidas de *S. enterica*

Como se mencionó al inicio de esta revisión, la manera en que esta bacteria modifica las vías de señalización de las células a las que infecta [59]. Con mutantes auxótrofas a aminoácidos y a otros compuestos se empezó a entender que estos no son sintetizados por el hospedero y sentaron las bases para el uso de estas mutantes como potenciales vacunas. También con *S. enterica* se observó por primera vez que invadía por un proceso de macropinocitosis, que podía sobrevivir y permanecer en una vacuola, lo que después se observó con otras bacterias intracelulares. El estudio de los efectores ha permitido disectar diversas señales y aún hay estudios que van descubriendo más actividades y nuevos efectores. También ha permitido comprender y dar avances en la respuesta inmune innata y adaptativa que este patógeno despierta. El aprendizaje de cómo funcionan los T3SS de *Salmonella* ha sido tal que incluso se ha propuesto su uso para acarrear compuestos anti-cancerígenos, lo cual parece muy prometedor [60].

CONCLUSIONES

Los recientes estudios de los mecanismos de patogenicidad de *Salmonella* nos muestran que este patógeno aún tiene mucho que enseñarnos en las áreas de la microbiología y la biología celular. Este conocimiento permitirá proponer estrategias que impidan, por ejemplo, la expresión de los diversos factores de virulencia y el desarrollo y uso de compuestos anti-virulencia de origen natural o sintético. Éstos, además de usarse en el tratamiento, pueden tener un uso profiláctico como aditivos en alimentos. En cuanto a la genotipificación o secuenciación genómica, ésta permitirá definir con más precisión los ST presentes en la población tanto animal como humana, lo cual permitirá definir cómo se están distribuyendo los aislados MDR. A pesar de estos avances, aún hay preguntas por contestar; por ejemplo ¿cómo actúan cada uno de los efectores y qué usos se le pueden dar? ¿en qué orden actúan los mismos tanto para la invasión como para la sobrevivencia? ¿comparten el mecanismo de virulencia todas las serovariedades de esta bacteria? De tal forma, es seguro que veremos aún más avances en los próximos años.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no tienen ningún conflicto de intereses con el contenido de este manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a los miembros del Laboratorio de Genética Microbiana por su apoyo y comentarios. La investigación en nuestro laboratorio es apoyada por el CONAHCYT (A-S1-25438) y por la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN (SIP 2023-0850 y 2024-0122).

CC BY NC SA

REFERENCIAS

[1]. Kariuki S, Gordon MA, Feasey N, Parry CM. Antimicrobial resistance and management of invasive *Salmonella* disease. Vaccine. 2015; 33(S3): C21–C29. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X15004417?via%3Dihub

[2]. Di Martino ML, Ek V, Hardt WD, Eriksson J, Sellin ME. Barcoded consortium infections resolve cell type-dependent *Salmonella* enterica serovar Typhimurium entry mechanisms. Mbio. 2019; 10(3): 1–15. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/mbio.00603-19

[3]. Organización Mundial de la Salud. Disponible en: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal). (Accessed on: September 17, 2024).

[4]. Tay J. Microbiología y Parasitología Médicas. 5ta ed. Méndez Editores: Ciudad de México 2019. Disponible en: https://www.freelibros.net/medicina/microbiologia-y-parasitologia-medicas-de-tay-5ta-edicion-jose-molina-lopez

[5]. Ortega N, Fanelli A, Serrano A, Martínez-Carrasco C, Escribano F, Tizzani P, *et al*. *Salmonella* seroprevalence in wild boar from Southeast Spain depends on host population density. Res Vet Sci. 2020; 132: 400-403. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528820309693?via%3Dihub

[6]. Martínez MTB, Ruiz Juárez D, Gutiérrez Rojas M, Olivares Orozco JL. Comportamiento epidemiológico de *Salmonella* sp. en alimentos de origen vegetal por región intercontinental. Rev Mex Ciencias. Agríc 2023;14 (1):109-121. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342023000100109

[7]. Gutiérrez-Cogco L, Montiel-Vázquez E, Aguilera-Pérez P, González-Andrade MC. *Salmonella* serotypes identified in Mexican health services. Salud Publ Mex. 2000; 42(6): 490–495. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11201576/

[8]. Contreras-Soto M, Medrano-Félix J, Ibarra-Rodríguez J, Martínez-Urtaza J, Chaidez Q, Castro-del Campo N. The last 50 years of *Salmonella* in Mexico: Sources of isolation and factors that influence its prevalence and diversity. Revista Bio Ciencias. 2019; 6: 1–26. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-33802019000200101

[9]. Serrano-Fujarte I, Calva E, García-Domínguez J, Ortiz-Jiménez S, Puente JL. Population structure and ongoing microevolution of the emerging multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium ST213. NPJ Antimicrob Resist. 2024;2: 10. Disponible en: https://www.nature.com/articles/s44259-024-00027-6

[10]. Milligan R, Paul M, Richardson M, Neuberger A. Vaccines for preventing typhoid fever. Cochrane Database Syst Rev. 2018; 5(5): CD001261. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29851031/

[11]. GBD 2021 Antimicrobial Resistance

CC BY NC SA

Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. The Lancet. 2024; 404(10459): 1199-1226. Disponible en: https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(24)01867-1/fulltext

[12]. Velge P, Wiedemann A, Rosselin M, Abed N, Boumart Z, Chaussé AM, *et al*. Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. MicrobiologyOpen. 2012; 1(3): 243–258. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mbo3.28

[13]. Ilyas B, Tsai CN, Coombes BK. Evolution of *Salmonella*-host cell interactions through a dynamic bacterial genome. Front Cell Infect Microbiol. 2017; 7(fcimb.2017.00428): 1-15. Disponible en: https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00428

[14]. Azimi T, Zamirnasta M, Sani MA, Dallal MMS, Nasser A. Molecular mechanisms of *Salmonella* effector proteins: A comprehensive review. Infect Drug Resist. 2020; 6(13): 11–26. Dusponible en: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/IDR.S230604

[15]. Que F, Wu S, Huang R. *Salmonella* pathogenicity Island 1(SPI-1) at work. Curr Microbiol. 2013; 66(6): 582–587. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-013-0307-8

[16]. Karaolis DKR. Pathogenicity Islands. In: Brenner S, Miller JH, Eds. Encyclopedia of Genetics. Academic Press. 2001; 1422–1424. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B0122270800016463

[17]. Jiang L, Feng L, Yang B, Zhang W, Wang P, Jiang X, *et al*. Signal transduction pathway mediated by the novel regulator LoiA for low oxygen tension induced *Salmonella* Typhimurium invasion. PLoS Pathog. 2017; 13(6): 1–26. Disponible en: https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1006429

[18]. Benítez JM, Camarena L. Mecanismos de regulación que controlan la expresión de la flagelina en bacterias. TIP Rev Esp Cienc Quím Biol. 2022; 25:1-12. Disponible en: http://tip.zaragoza.unam.mx/index.php/tip/article/view/460

[19]. Lunelli M, Hurwitz R, Lambers J, Kolbe M. Crystal structure of prgi-sipd: Insight into a secretion competent state of the type three secretion system needle tip and its interaction with host ligands. PLoS Pathog. 2011; 7(8):e1002163. https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1002163

[20]. Lou L, Zhang P, Piao R, Wang Y. *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI-1) and Its Complex Regulatory Network. Front Cell Infect Microbiol. 2019; 31(9):270. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31428589/

[21]. Lara-Tejero M, Galán JE. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium pathogenicity

CC BY NC SA

island 1-encoded type III secretion system translocases mediate intimate attachment to nonphagocytic cells. Infect Immun. 2009; 77(7): 2635–2642. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.00077-09?permanently=true

[22]. Marcus SL, Brumell JH, Pfeifer CG, Finlay BB. *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. Microbes Infect. 2000; 2(2):145-156. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457900002732?via%3Dihub

[23]. Cao G, Allard M, Strain E, Stones R, Zhao S, Brown E, *et al*. Genetic diversity of *Salmonella* pathogenicity islands SPI-5 and SPI-6 in *Salmonella* newport. Foodborne Pathog Dis. 2014; 11(10): 798–807. https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2014.1784

[24]. LaRock DL, Chaudhary A, Miller SI. Salmonellae interactions with host processes. Nat Rev Microbiol. 2015; 13(4): 191–205. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5074537/

[25]. Hume PJ, Singh V, Davidson AC, Koronakis V. Swiss army pathogen: The *Salmonella* entry toolkit. Front Cell Infect Microbiol. 2017; 9(7):348. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28848711/

[26]. Hänisch J, Ehinger J, Ladwein M, Rohde M, Derivery E, Bosse T, *et al*. Molecular dissection of *Salmonella*-induced membrane ruffling versus invasion. Cell Microbiol. 2009; 12(1): 84–98. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1462-5822.2009.01380.x

[27]. Humphreys D, Davidson A, Hume PJ, Koronakis V. *Salmonella* virulence effector SopE and host GEF ARNO cooperate to recruit and activate WAVE to trigger bacterial invasion. Cell Host Microbe. 2012; 11(2): 129–139. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312812000285?via%3Dihub

[28]. Cohen LA, Honda A, Varnai P, Brown FD, Balla T, Donaldson JG. Active Arf6 recruits ARNO/cytohesin GEFs to the PM by binding their PH domains. Mol Biol Cell. 2007; 18(6): 2244-2253. Disponible en: https://www.molbiolcell.org/doi/10.1091/mbc.E06-11-0998

[29]. Humphreys D, Davidson AC, Hume PJ, Makin LE, Koronakis V. Arf6 coordinates actin assembly through the WAVE complex, a mechanism usurped by *Salmonella* to invade host cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2013; 110(42):16880-16885. Disponible en: https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1311680110

[30]. dos Santos AMP, Ferrari RG, Conte-Junior CA. Virulence Factors in *Salmonella* Typhimurium: The sagacity of a bacterium. Curr Microbiol. 2019; 76(6): 762–773. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-018-1510-4

[31]. Davidson AC, Humphreys D, Brooks ABE, Hume PJ, Koronakis V. The Arf GTPase-activating protein family is exploited by

CC BY NC SA

Salmonella enterica serovar Typhimurium to invade nonphagocytic host cells. MBio. 2015; 6(1):e02253-14. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/mbio.02253-14

[32]. Pavlova B, Volf J, Ondrackova P, Matiasovic J, Stepanova H, Crhanova M, *et al*. SPI-1-encoded type III secretion system of *Salmonella enterica* is required for the suppression of porcine alveolar macrophage cytokine expression. Vet Res. 2011; 42(1): 16. Disponible en: https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9716-42-16

[33]. Wiedemann A, Mijouin L, Ayoub MA, Barillea E, Canepa S, Teixeira-Gomes AP, *et al*. Identification of the epidermal growth factor receptor as the receptor for *Salmonella* Rck-dependent invasion. FASEB J. 2016; 30(12): 4180–4191. Disponible en: https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1096/fj.201600701R

[34]. Rakov AV, Mastriani E, Li SL, Schifferli DM. Association of *Salmonella* virulence factor alleles with intestinal and invasive serovars. BMC Genomics. 2019; 20(1): 429. Disponible en: https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-019-5809-8

[35]. Roche SM, Holbert S, Trotereau J, Schaeffer S, Georgeault S, Virlogeux-Payant I, *et al*. *Salmonella* Typhimurium invalidated for the three currently known invasion factors keeps its ability to invade several cell models. Front Cell Infect Microbiol. 2018; 8: 273. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30148118/

[36]. Barilleau E, Védrine M, Koczerka M, Burlaud-Gaillard J, Kempf F, Grépinet O, *et al*. Investigation of the invasion mechanism mediated by the outer membrane protein PagN of *Salmonella* Typhimurium. BMC Microbiol. 2021; 21(1): 153. Disponible en: https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-021-02187-1

[37]. Criss AK, Casanova JE. Coordinate regulation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion of epithelial cells by the Arp2/3 complex and Rho GTPases. Infect Immun. 2003; 71(5): 2885–2891. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.71.5.2885-2891.2003

[38]. Hapfelmeier S, Ehrbar K, Stecher B, Barthel M, Kremer M, Hardt WD. Role of the *Salmonella* Pathogenicity Island1 Effector Proteins SipA, SopB, SopE, and SopE2 in *Salmonella enterica* subspecies 1 serovar Typhimurium Colitis in Streptomycin-Pretreated Mice. Infect Immun. 2004: 72(2); 795–809. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.72.2.795-809.2004

[39]. Arpaia N, Godec J, Lau L, Sivick KE, McLaughlin LM, Jones MB, *et al*. TLR signaling is required for *Salmonella* typhimurium virulence. Cell. 2011; 144(5): 675–688. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867411000705?via%3Dihub

CC BY NC SA

[40]. Piscatelli HL, Li M, Zhou D. Dual 4- and 5-phosphatase activities regulate SopB-dependent phosphoinositide dynamics to promote bacterial entry. Cell Microbiol. 2016; 18(5): 705–719. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cmi.12542

[41]. Fàbrega A, Vila J. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium skills to succeed in the host: Virulence and regulation. Clin Microbiol Rev. 2013; 26(2): 308–341. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00066-12

[42]. Knodler LA. *Salmonella enterica*: Living a double life in epithelial cells. Curr Opin Microbiol. 2015; 23: 23–31. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527414001581?via%3Dihub

[43]. Pucciarelli MG, García-del Portillo FG. *Salmonella* intracellular lifestyles and their impact on host-to-host transmission. Microbiol Espectr. 2017; 5(4): 95–116. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.mtbp-0009-2016

[44]. Knodler LA, Vallance BA, Celli J, Winfree S, Hansen B, Montero M, *et al*. Dissemination of invasive *Salmonella* via bacterial-induced extrusion of mucosal epithelia. Proc Natl Acad Sci USA. 2010; 107(41): 17733–17738. Disponible en: https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1006098107

[45]. Laughlin RC, Knodler LA, Barhoumi RR, Payne H, Wu J, Gomez G, *et al*. Spatial segregation of virulence gene expression during acute enteric infection with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. mBio. 2014; 5(1): e00946-13. Disponible en: https://journals.asm.org/doi/10.1128/mbio.00946-13

[46]. Sellin ME, Müller AA, Felmy B, Dolowschiak T, Diard M, Tardivel A, *et al*. Epithelium-intrinsic NAIP/NLRC4 inflammasome drives infected enterocyte expulsion to restrict *Salmonella* replication in the intestinal mucosa. Cell Host Microbe. 2014; 16(2): 237–248. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312814002558?via%3Dihub

[47]. Knodler LA, Nair V, Steele-Mortimer O. Quantitative assessment of cytosolic *Salmonella* in epithelial cells. PLoS ONE. 2014; 9(1): e84681. Disponible en: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0084681

[48]. Castanheira S, García-del Portillo F. *Salmonella* populations inside host cells. Front Cell Infect Microbiol. 2017; 7: 432. https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00432

[49]. Kreibich S, Emmenlauer M, Fredlund J, Rämö P, Münz C, Dehio C, *et al*. Autophagy proteins promote repair of endosomal membranes damaged by the *Salmonella* type three secretion system 1. Cell Host Microbe. 2015; 18(5): 527–537. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312815004254

[50]. Linhartová I, Bumba L, Mašn J, Basler M, Osička R, Kamanová J, *et al*. RTX proteins: A highly diverse family secreted by a common

CC BY NC SA

mechanism. FEMS Microbiol Rev. 2010; 34(6): 1076–1112. Disponible en: https://academic.oup.com/femsre/article/34/6/1076/592723

[51]. Deng W, Marshall NC, Rowland JL, McCoy JM, Worrall LJ, Santos AS, *et al*. Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems. Nat Rev Microbiol. 2017; 15(6): 323–337. Disponible en: https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.20

[52]. Du J, Reeves AZ, Klein JA, Twedt DJ, Knodler LA, Lesser CF. The type III secretion system apparatus determines the intracellular niche of bacterial pathogens. Proc Natl Acad Sci USA. 2016; 113(17): 4794–4799. Disponible en: https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1520699113?doi=10.1073%2Fpnas.1520699113

[53]. Ibarra J, Knodler LA, Sturdevant DE, Virtaneva K, Carmody AB, Fischer ER, *et al*. Induction of *Salmonella* pathogenicity island 1 under different growth conditions can affect *Salmonella*-host cell interactions *in vitro*. Microbiology. 2010; 156(4): 1120–1133. Disponible en: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.032896-0

[54]. Leblond CP, Stevens CE. The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat. Anat Rec. 1948; 100(3): 357–377. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ar.1091000306

[55]. Malik-Kale P, Winfree S, Steele-Mortimer O. The bimodal lifestyle of intracellular *Salmonella* in epithelial cells: Replication in the cytosol obscures defects in vacuolar replication. PLoS ONE. 2012; 7(6): e38732. Disponible en: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0038732

[56]. Knodler LA, Crowley SM, Sham HP, Yang H, Wrande M, Ma C, *et al*. Noncanonical inflammasome activation of caspase-4/caspase-11 mediates epithelial defenses against enteric bacterial pathogens. Cell Host Microbe. 2014; 16(2): 249–256. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S193131281400256X

[57]. Meunier E, Dick MS, Dreier RF, Schürmann N, Broz DK, Warming S, *et al*. Caspase-11 activation requires lysis of pathogen-containing vacuoles by IFN-induced GTPases. Nature. 2014; 509(7500): 366–370. Disponible en: https://ideas.repec.org/a/nat/nature/v509y2014i7500d10.1038_nature13157.html

[58]. Luk CH, Valenzuela C, Gil M, Swistak L, Bomme P, Chang YY, *et al*. *Salmonella* enters a dormant state within human epithelial cells for persistent infection. PLoS Pathog. 2021; 17(4): e1009550. Disponible en: https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1009550

[59]. Petersen E, Miller SI. The cellular microbiology of *Salmonellae* interactions with macrophages. Cell Microbiol. 2019;21(11):e13116. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/c

CC BY NC SA

mi.13116

[60] Badie F, Ghandali M, Tabatabaei SA, Safari M, Khorshidi A, Shayestehpour M, *et al*. Use of *Salmonella* Bacteria in Cancer Therapy: Direct, Drug Delivery and Combination Approaches. Front Oncol. 2021; 2(11):624759. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33738260/