

# *Staphylococcus aureus*

## De la colonisation à la bactériémie

---

B Guery

CHRU Lille

Journées Nationales d'Infectiologie

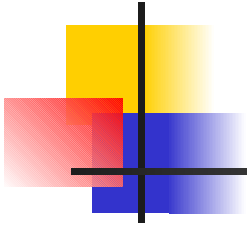
Dijon-Juin 2007



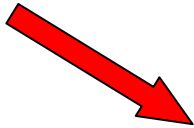
# Epidémiologie

---

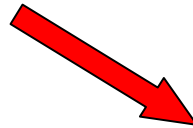
- *S aureus*: cocci Gram positif, considéré comme un colonisateur intermittent
- Généralement pas d'effets secondaires à cette colonisation en dehors des ruptures de la barrière cutanéomuqueuse
  - Facteurs de virulence



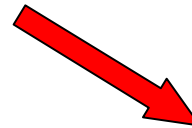
Colonisation



Eviter les défenses de l'hôte



Croissance et division



Dissémination



# Principaux tableaux cliniques

---

- Furoncles
- Abscès
- Sepsis
- Pneumonie
- Pneumonies nécrosantes
- TSS.....



# De la colonisation à la bactériémie

---

- Les facteurs liés au pathogène
- Les facteurs liés à la réponse inflammatoire
- Les facteurs liés à l'hôte



# Pathogénicité

---

- Facteurs de surface
  - Poly-N-acetylglucosamine (Kropec, Inf Imm 2005)
  - Acide techoïque (Weidenmaier, JID 2005)
  - Peptidoglycane via les TLR et la NOS (Visser, J Immunol 2005)
- Facteurs sécrétés
  - PVL: action au niveau de la membrane mitochondriale externe des PMN avec activation des caspases 3 et 9 (Genestier, JCI 2005)
  - Superantigènes: induction d'une activité mitogénique cellulaire T par couplage direct avec les CMH
  - Enterotoxine A



# Toxines staphylococciques

---

- Toxine du choc toxique
  - TSST-1
- Entérotoxines
  - SEA, SEB, SEC, ... SECP
- Exfoliatines
  - ETA, ETB, (ETD et ETE en cours)
- toxines synergohymenotropes
  - Leucocidine de Panton et Valentine

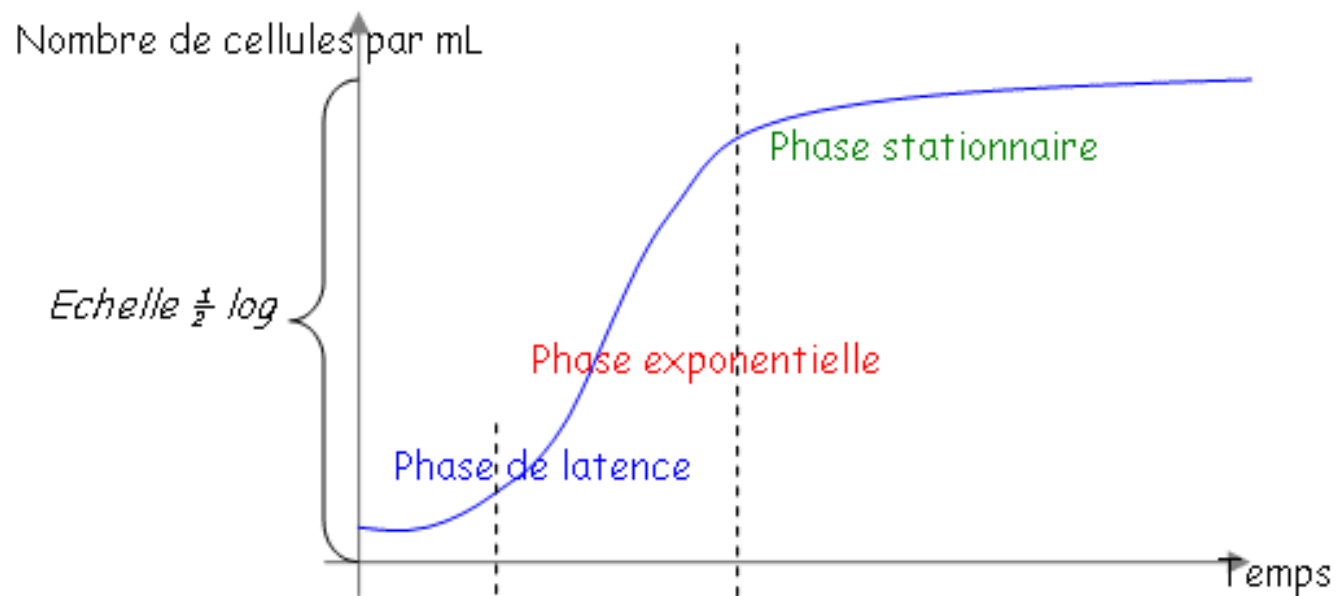
**Table 1. Known and possible virulence factors involved in staphylococcal diseases**

	<b>Staphylococcal diseases</b>	<b>Virulence factors [reference]</b>	<b>Mechanism of action</b>
Toxin-mediated diseases	Scaled-skin syndrome	Exfoliatine B [15]	Targeting the desmoglein-1 protein
	Toxic shock syndrome	TSST-1 [18] SEA-E, SEH-U [18]	Superantigenic activity Superantigenic activity
Suppurative diseases	Arthritis and osteomyelitis	Bone sialoprotein-binding protein [31]	Adhesion to extracellular matrix
		Collagen-binding protein [32]	Adhesion to extracellular matrix
		Clumping factor A and B [25**]	Adhesion to extracellular matrix
		Hemolysin- $\alpha$ [33] Protein A [33]	Cell-lysis Adhesion to extracellular matrix
	Infective endocarditis	Clumping factor A [35**,36**,37**]	Adhesion to extracellular matrix
		Fibronectin-binding protein A [34**,36**] Collagen-binding protein [38]	Adhesion to extracellular matrix Adhesion to extracellular matrix
	Pneumonia acquired under mechanic ventilation	Lipoteichoic acid and peptidoglycan [41]	Interaction with TLR2
Protein A [9] Fibronectin-binding protein [40**] Hemolysin- $\alpha$ [42,43]		Interaction with TNF-R1 Adhesion to extracellular matrix Cell-lysis, injury of the alveolo-capillary barrier	
Necrotizing pneumonia	Panton Valentin leukocidin [13**,44**] Collagen-binding protein [46**]	Polymorphoneutrophils lysis Adhesion to extracellular matrix	
Septic shock	Lipoteichoic acid and peptidoglycan [21] Capsular types 5 and 8 [6**]	Interaction with TLR2	
		Resistance to host immune defenses	
	Clumping factor A and B [25**] Protein A [26]	Adhesion to extracellular matrix Resistance to host immune defenses	
	Extracellular fibronectin-binding protein [28**] Hemolysin- $\alpha$ [5,29]	Adhesion to extracellular matrix Loss of cardiac performance, endothelial cell-lysis	
Emerging diseases	Neotnatal toxic shock syndrome-like exanthematous disease	SEA [22,23*] TSST-1 [51]	Superantigenic activity Superantigenic activity
		Staphylococcal purpura fulminans	TSST-1, SEB, SEC [19**]

SE—staphylococcal enterotoxin; TLR—toll-like receptor; TNF—tumor necrosis factor; TSST—toxin shock syndrome toxin.



# Croissance bactérienne





# Phase exponentielle

---

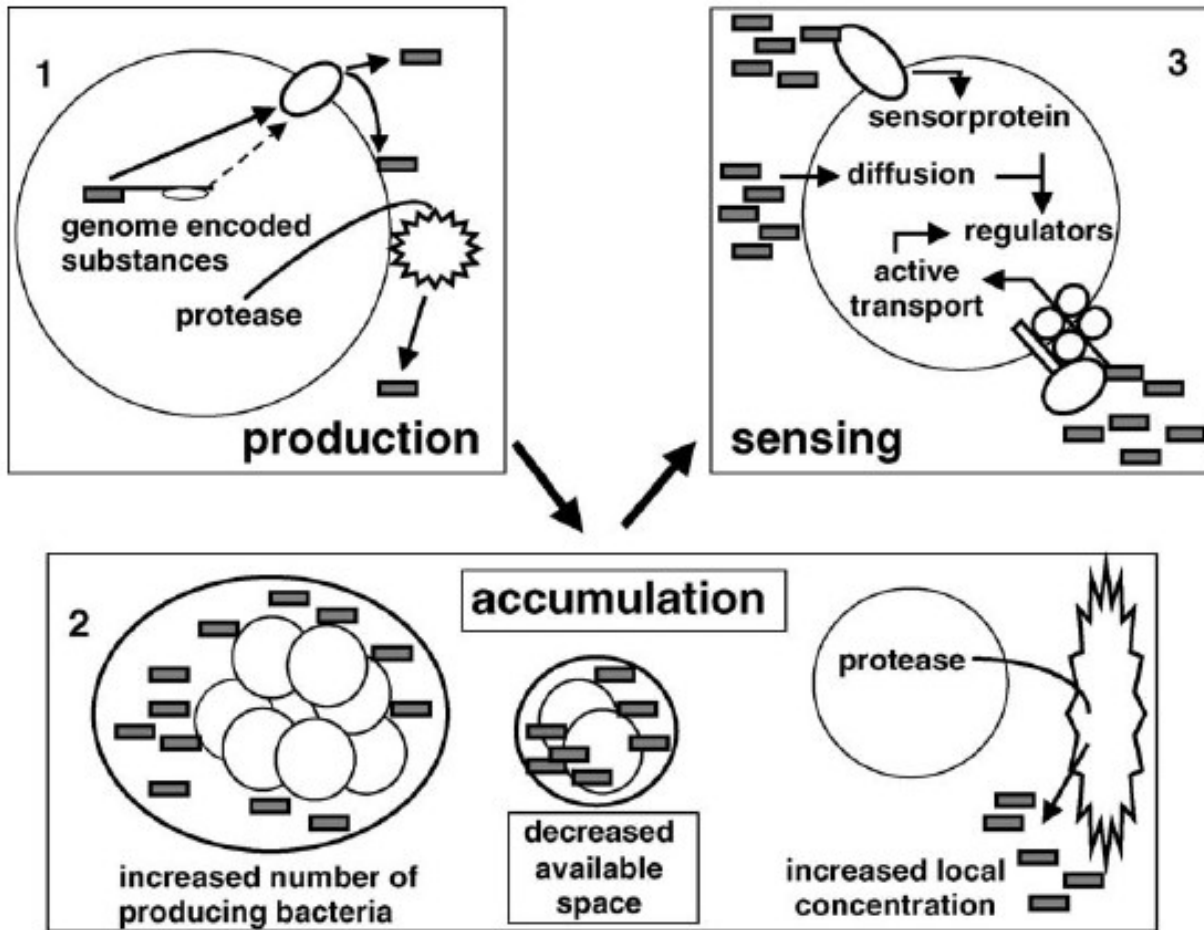
- Synthèse accrue des protéines de membrane avec une fonction d'adhésine
- Phénotype sessile
- Correspond à la phase d'adhésion et de colonisation
  - MSCRAMMs: microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules
  - Adhésion à: fibrinogène, fibronectine, collagène



# Phase post-exponentielle

---

- Répression de la synthèse des protéines de surface
- Synthèse des toxines extracellulaires et des enzymes
- Favorise l'invasion locale et la dissémination
- Nécessité ensuite d'un switch pour revenir au caractère sessile = QS dépendant





# Deux familles de régulateurs globaux

---

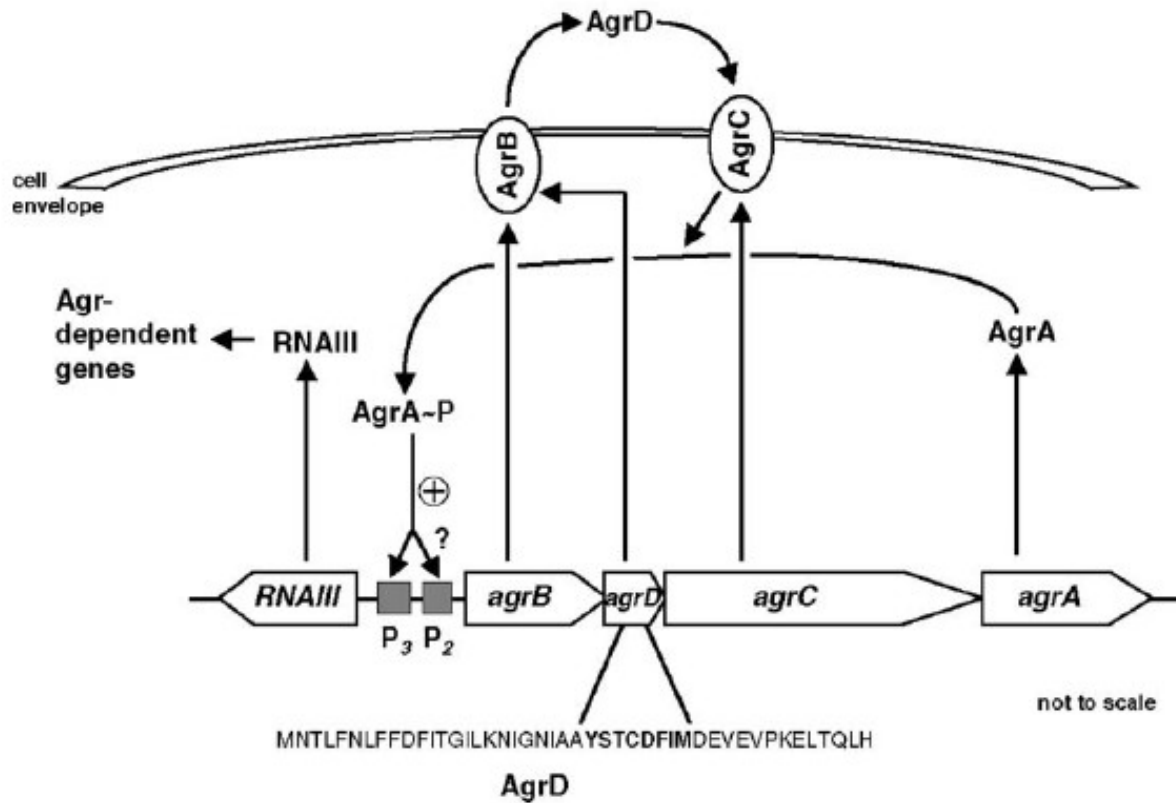
- TCRS: systèmes de régulation à deux composants dont agr
- Les homologues de SarA
  
- Systèmes complexes avec chevauchements et interactions multiples



# Opéron *agr*

---

- 4 gènes
  - agrB: protéase associée à la membrane
  - agrD: peptide signal
  - agrC: kinase sensor associée à la membrane
  - agrA: régulateur cytoplasmique





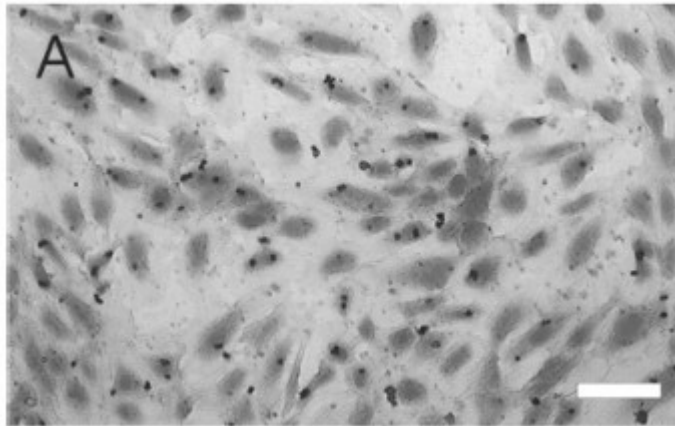
# agr est associé à la virulence

---

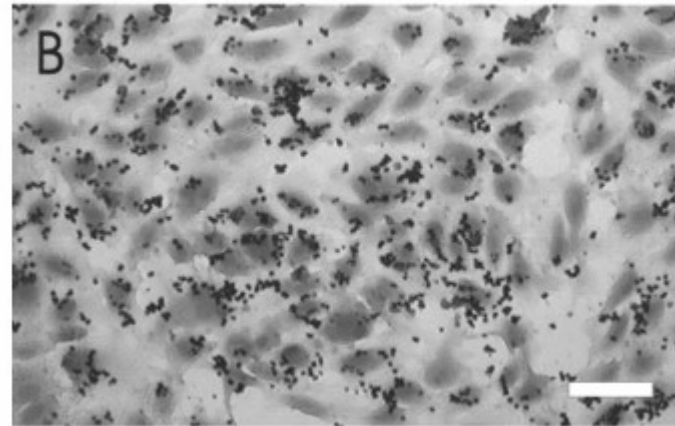
- agr exerce un contrôle positif sur
  - Matériel de la capsule
  - Cytolysines
  - Serine protéase
  - Lipases
  - Estérases
  - Système de transport



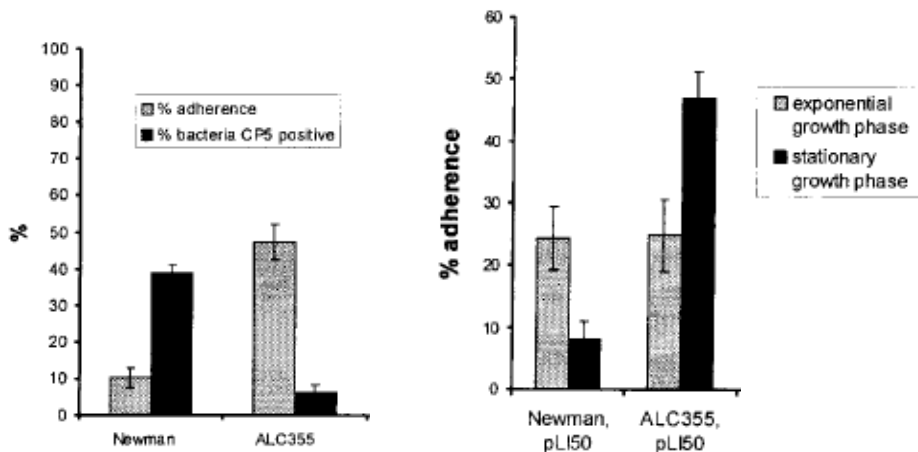
# agr et le polysaccharide de capsule 5/cellules endothéliales



Souche sauvage agr+



Souche agr-

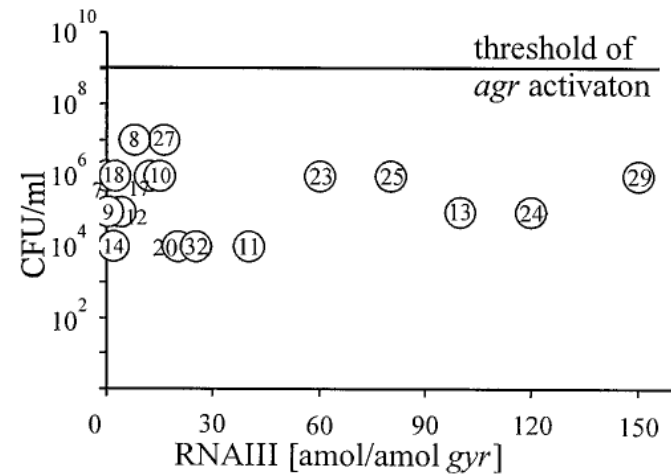
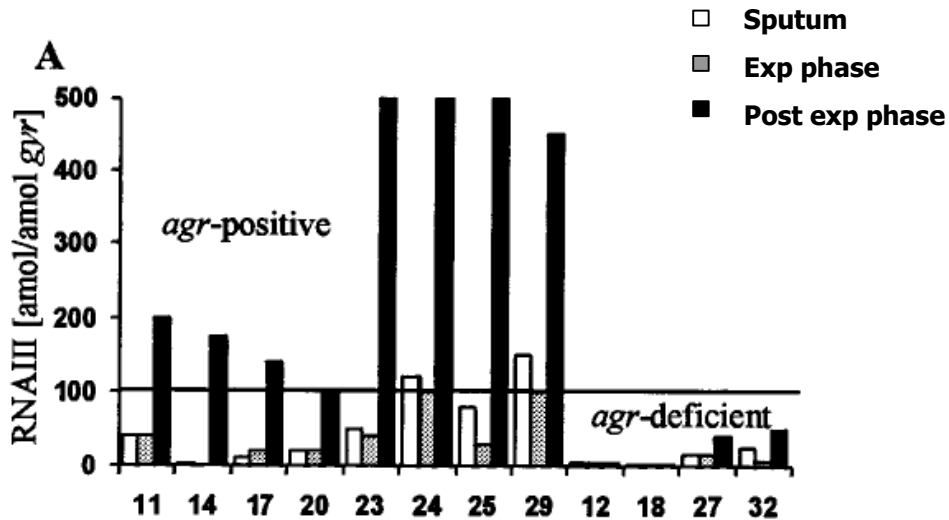


Expression postexponentielle *agr*-  
independent d'une adhésine pour les  
cellules endothéliales dont le domaine  
est masqué par CP5

# agr in vivo

- 17 patients mucoviscidosiques

- 23 souches





# agrD et localisation

---

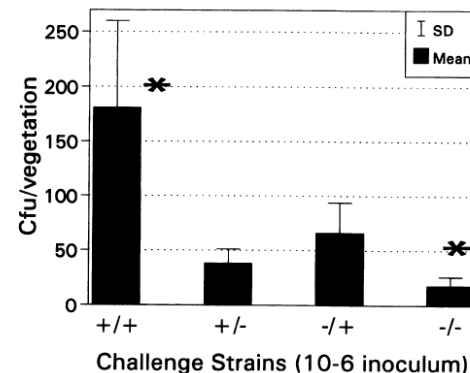
- En fonction de la séquence d'agrD, les souches de *S. aureus* sont assignés à 4 groupes (I-IV)
- Chaque groupe présente certaines caractéristiques
  - GI: colonisation vaginale
  - GI-II: pathologies médiées par l'enterotoxine
  - GIII: choc toxique
  - GIV: pathologies médiées par la toxine exfoliative

## Diminished Virulence of a *sar*<sup>-</sup>/*agr*<sup>-</sup> Mutant of *Staphylococcus aureus* in the Rabbit Model of Endocarditis

- Mutant *sar*<sup>-</sup>/*agr*<sup>-</sup>:
  - pas de production d'hémolysine
  - Diminution de la capacité de fixation à la fibronectine

Table III. The Induction of Endocarditis in a Rabbit Model with *sar*<sup>+</sup>/*agr*<sup>+</sup> (RN6390), *sar*<sup>+</sup>/*agr*<sup>-</sup>, *sar*<sup>-</sup>/*agr*<sup>+</sup>, and *sar*<sup>-</sup>/*agr*<sup>-</sup> Strains

	Strains			
	RN6390 ( <i>sar</i> <sup>+</sup> / <i>agr</i> <sup>+</sup> )	RN6911 ( <i>sar</i> <sup>+</sup> / <i>agr</i> <sup>-</sup> )	Mutant R ( <i>sar</i> <sup>-</sup> / <i>agr</i> <sup>+</sup> )	Mutant I ( <i>sar</i> <sup>-</sup> / <i>agr</i> <sup>-</sup> )
10 <sup>3</sup> CFU	9/10	4/10*	0/10 <sup>‡</sup>	0/10 <sup>§</sup>
10 <sup>4</sup> CFU	7/10	4/11	1/9 <sup>‡</sup>	0/10 <sup>§</sup>
10 <sup>5</sup> CFU	11/11	8/10	10/11	2/7 <sup>§</sup>
10 <sup>6</sup> CFU	9/9	8/11	9/12	4/8 <sup>§</sup>





# Dissociation in vitro-in vivo

Table 2  
Comparison of *S. aureus* virulence factor expression in vitro and in vivo in animal models

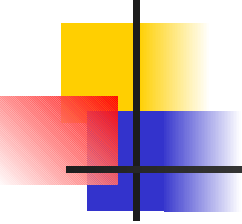
<i>S. aureus</i> promoter	Class	In vitro expression	In vivo expression	Animal model
<i>sarA P1</i>	global regulator	+ (log-phase)	+	endocarditis
<i>sarA P2</i>	global regulator	–	+	endocarditis
<i>sarA P3</i>	global regulator	–	–	endocarditis
<i>Agr RNAIII</i>	global regulator	+ (stationary-phase)	+	endocarditis; skin infection
<i>agr RNAIII</i> ( <i>agr</i> mutants)	global regulator	–	±	endocarditis
<i>hla</i>	extracellular toxin	+ (stationary-phase)	+	subcut. device infection; skin infection
<i>hla</i> ( <i>agr</i> mutant)	extracellular toxin	–	+	subcut. device infection; skin infection
<i>cap5</i>	surface exopolysaccharide	+ (stationary-phase); regulated by <i>sarA</i> and <i>agr</i>	+ regulated mainly by <i>agr</i>	endocarditis, skin infection
<i>fnbA</i>	surface adhesin	+ (exponential phase) regulated by <i>sarA</i> and <i>agr</i>	+ expressed in the presence or absence of <i>sarA</i> and <i>agr</i>	endocarditis

# Clonal Distribution and Differential Occurrence of the Enterotoxin Gene Cluster, *egc*, in Carriage- versus Bacteremia-Associated Isolates of *Staphylococcus aureus*

Alex van Belkum,<sup>1</sup> Damian C. Melles,<sup>1\*</sup> Susan V. Snijders,<sup>1</sup> Willem B. van Leeuwen,<sup>1</sup> Heiman F. L. Wertheim,<sup>1</sup> Jan L. Nouwen,<sup>1</sup> Henri A. Verbrugh,<sup>1</sup> and Jerome Etienne<sup>2</sup>

TABLE 1. Presence of *egc* locus in carriage versus invasive isolates ( $n = 391$ )

Isolate	No. (%) of isolates		
	Negative for SEM	Positive for SEM	Total
Carriage isolates			
MUP	45 (38.1)	73 (61.9)	118 (100)
ERGO	29 (33.7)	57 (66.3)	86 (100)
Total	74 (36.3)	<b>130 (63.7)</b>	204 (100)
Invasive isolates			
MUP	47 (50.0) <sup>c</sup>	47 (50.0) <sup>d</sup>	94 (100)
ERGO	41 (44.1)	52 (55.9)	93 (100) <sup>e</sup>
Total	88 (47.1)	<b>99 (52.9)</b>	187 (100)

- 
- 
- Rôle majeur des signaux environnementaux dans l'activation in vivo des gènes de virulence
  - Implication d'autres système que sarA et agr dans la virulence (sae, homologues de SarA)



# De la colonisation à la bactériémie

---

- Les facteurs liés au pathogène
- Les facteurs liés à la réponse inflammatoire
- Les facteurs liés à l'hôte

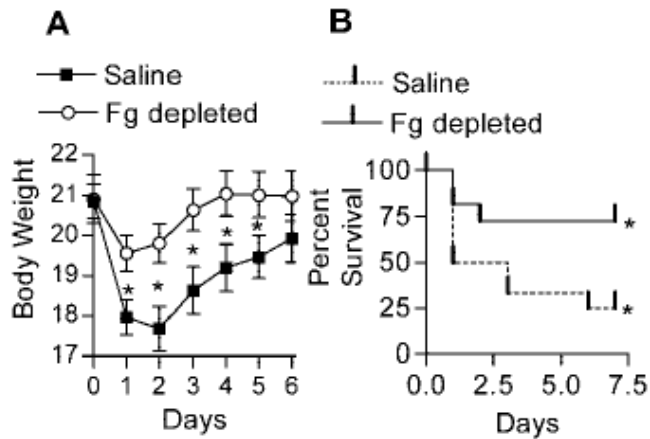


# Fibrinogen Depletion Attenuates *Staphylococcus aureus* Infection by Preventing Density-Dependent Virulence Gene Up-Regulation<sup>1</sup>

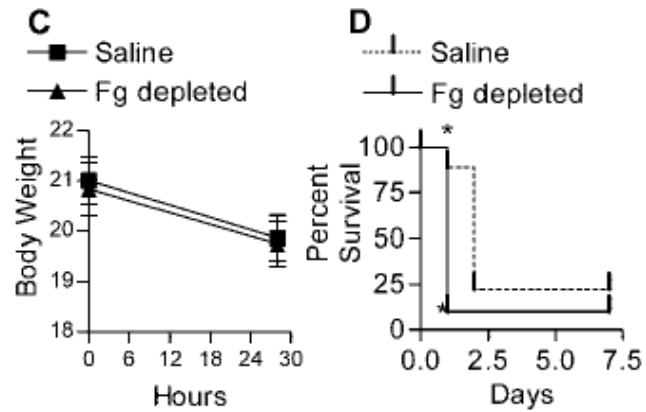
Jacob M. Rothfork,<sup>\*†</sup> Sophie Dessus-Babus,<sup>\*†</sup> Willem J. B. Van Wamel,<sup>‡</sup> Ambrose L. Cheung,<sup>‡</sup> and Hattie D. Gresham<sup>2\*†</sup>

- Dans la réponse inflammatoire le fibrinogène joue un rôle critique
  - Migration et adhésion des PMN
  - Induction de la synthèse de cytokines et chémokines
  - Tapissage des corps étrangers
  - Processus de réparation
- *S aureus* exprime au moins 7 protéines interagissant avec le fibrinogène

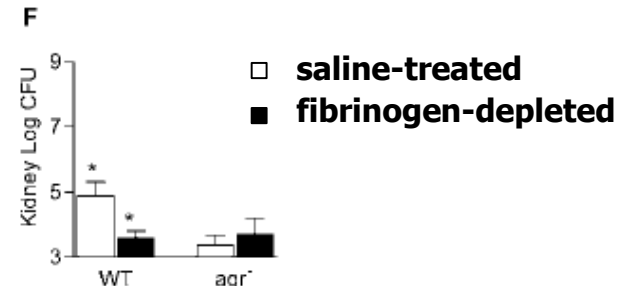
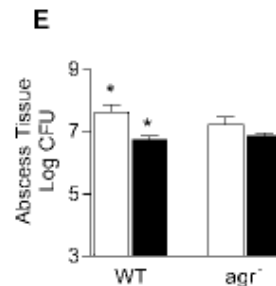
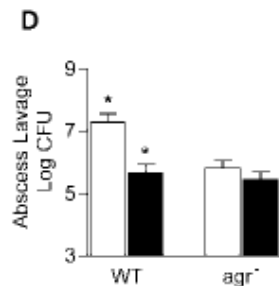
# Le fibrinogène constitue un puissant signal in vivo permettant l'expression des facteurs de virulence dépendants du QS



Wild type bacteria

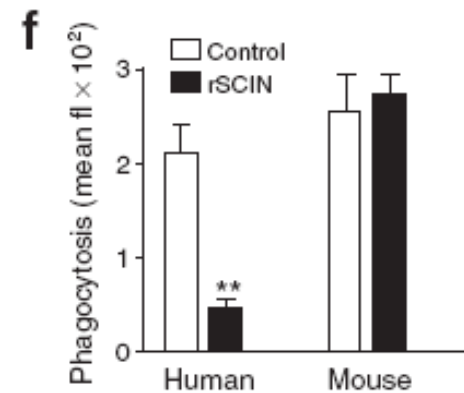
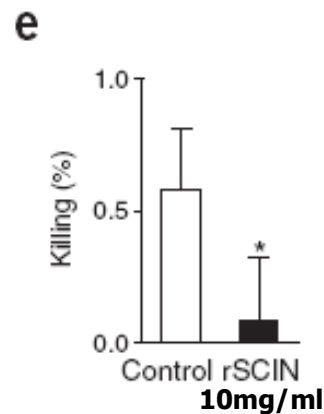
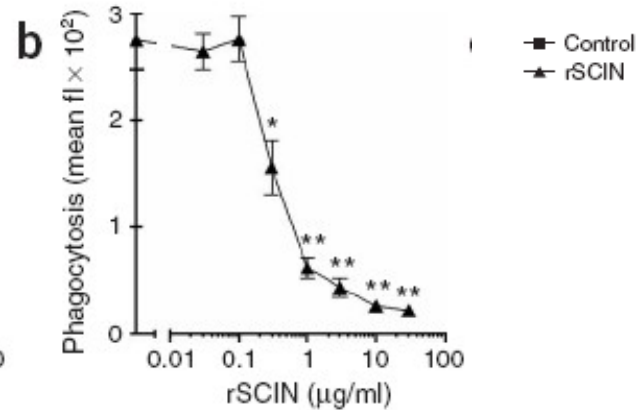
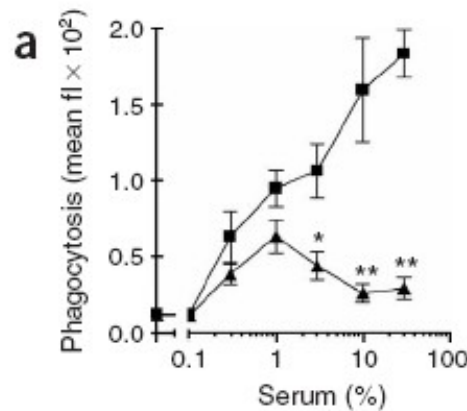


*agr*- bacteria



# Immune evasion by a staphylococcal complement inhibitor that acts on C3 convertases

Suzan H M Rooijackers<sup>1</sup>, Maartje Ruyken<sup>1</sup>, Anja Roos<sup>2</sup>, Mohamed R Daha<sup>2</sup>, Julia S Presanis<sup>3</sup>, Robert B Sim<sup>3</sup>, Willem J B van Wamel<sup>1</sup>, Kok P M van Kessel<sup>1</sup> & Jos A G van Strijp<sup>1</sup>





# De la colonisation à la bactériémie

---

- Les facteurs liés au pathogène
- Les facteurs liés à la réponse inflammatoire
- Les facteurs liés à l'hôte

# Porteur persistant vs intermittent

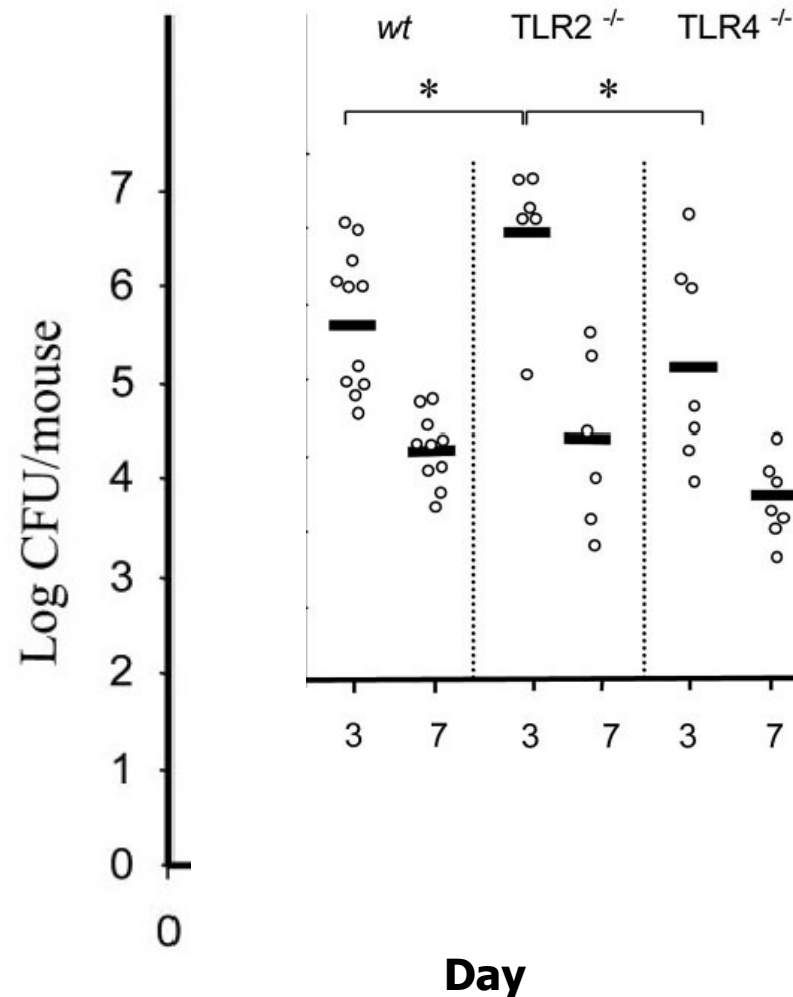


---

- Persistant: 2 cultures nasales à 1 semaine d'intervalle avec plus de  $10^3$  CFU. (Nouwen, CID 2004)
- Intermittent: une culture positive ou moins de  $10^3$  CFU.
- Augmentation du risque d'auto-infection chez le persistant
- Risque infectieux équivalent entre l'intermittent et le non porteur

# Bacterial and Host Factors Implicated in Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Mice

Bruno González-Zorn,<sup>1†</sup> Jose P. M. Senna,<sup>1‡</sup> Laurence Fiette,<sup>2</sup> Spencer Shorte,<sup>3</sup>  
Aurélie Testard,<sup>1</sup> Michel Chignard,<sup>4</sup> Patrice Courvalin,<sup>1</sup>  
and Catherine Grillot-Courvalin<sup>1\*</sup>



# Lack of Association between Toll-Like Receptor 2 Polymorphisms and Susceptibility to Severe Disease Caused by *Staphylococcus aureus*

Catrin E. Moore,<sup>1\*</sup> Shelley Segal,<sup>1</sup> Anthony R. Berendt,<sup>2</sup> Adrian V. S. Hill,<sup>1</sup> and Nicholas P. J. Day<sup>1,3</sup>

- 420 patients consécutifs avec une pathologie invasive à *S. aureus*
- Aucune association entre un polymorphisme TLR2 et infection sévère à *S. aureus*

TABLE 1. Severe *S. aureus* disease cases

Diagnosis	No. (%) of patients in indicated disease group(s)		
	Community-acquired infection (n = 112)	Hospital-acquired infection (n = 308)	Both
Device-related septicemia	5 (4)	154 (50)	159 (38)
Soft tissue infection with septicemia	29 (26)	39 (13)	68 (16)
Osteomyelitis	17 (15)	34 (11)	51 (12)
Unexplained septicemia	16 (14)	20 (6)	36 (9)
Prosthetic joint infection	5 (4)	25 (8)	30 (7)
Septic arthritis	13 (12)	7 (2)	20 (5)
Endovascular infection	12 (11)	4 (1)	16 (4)
Secondary meningitis	1 (1)	11 (4)	12 (3)
Deep abscess (including empyema)	5 (4)	7 (2)	12 (3)
Pneumonia	5 (4)	4 (1)	9 (2)
Urinary tract infection with septicemia	3 (3)	3 (1)	6 (1)
Toxic shock syndrome	1 (1)	0	1



# Conclusion

---

- Le passage de la colonisation à la bactériémie
  - Multifactoriel
  - Fait intervenir des facteurs liés au pathogène, à la réponse induite, à l'hôte
  - Pas totalement élucidé
  - Intérêt d'avoir des molécules capables d'inhiber le pathogène à ses différents stades évolutifs.