

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organizmů



Marie Cabrnchová

Molekulární interakce *Staphylococcus aureus* s hostitelem

Molecular interactions of *Staphylococcus aureus* with the host

Bakalářská práce

Školitel: doc. MVDr. Oto Melter, PhD.

Praha, 2018

Ráda bych poděkovala školiteli bakalářské práce doc. MVDr. Oto Melterovi, PhD a Mgr. Janu Tkadlecí za jejich cenné rady a čas, který mi věnovali při psaní této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu během psaní.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13.8.2018

Podpis

Obsah

Seznam zkratk.....	iv
Abstrakt	vi
1. Úvod.....	8
2. Kolonizace a infekce hostitelské buňky	10
2.1 Adheze k hostitelské buňce	12
2.1.1 Složky buněčné stěny	14
2.1.2 Biofilm.....	15
3. Interakce <i>Staphylococcus aureus</i> s neutrofilý	17
3.1 Selektivní lýza neutrofilů	18
3.2 Chemotaxe neutrofilů a její inhibice	19
3.3 Fagocytóza a její inhibice.....	21
3.3.1 Obranné mechanismy <i>S. aureus</i> proti radikálům	22
3.3.2 Odolnost k antimikrobiálním peptidům a enzymům	23
3.4 Intracelulární cyklus	24
4. Závěr.....	26
5. Seznam použité literatury	27

Seznam zkratek

AMK	Aminokyseliny	Amino acids
AMP	Antimikrobiální peptidy	Antimicrobial peptides
AFA	Antibakteriální mastné kyseliny	Antibacterial fatty acids
C5aR	Receptor pro C5a	C5a receptor
ClfA	Clumping faktor A	Clumping factor A
ClfB	Clumping faktor B	Clumping factor B
<i>clfB</i>	Gen pro clumping faktor B	
CHIPS	Chemotaxi inhibující protein <i>S. aureus</i>	Chemotaxis inhibitory protein of <i>S. aureus</i>
CWA	Proteiny ukotvené v buněčné stěně	Cell wall anchored proteins
DEFB1	Gen pro <i>Defensin beta 1</i>	
DLL	„zapadnout, zamknout, zajistit“	Dock, lock, latch
ECL2	Extracelulární smyčka	Extracellular loop
eDNA	Extracelulární DNA	Extracellular DNA
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter</i> spp.	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter</i> spp.
FLIPr	Formyl peptid receptor-like 1 inhibiční protein	Formyl peptid receptor-like 1 inhibitory protein
FLIPr-like	Formyl peptid receptor-like 1 inhibiční protein-like	Formyl peptid receptor-like 1 inhibitory protein-like
fMLP	N-formyl-metionyl-leucylfenylalanin	N-formyl-methionyl-leucylphenylalanin
FPR	Formyl peptid receptor	Formyl peptid receptor
FPR1	Formyl peptid receptor 1	Formyl peptid receptor 1
FPR2	Formyl peptid receptor-like 1	Formyl peptid receptor-like 1
FPR3	Formyl peptid receptor 3	Formyl peptid receptor 3
GlcNAc	N-acetylglukosamin	N-acetylglukosamin
HlgAB	Gamma-hemolysin AB	Gamma-hemolysin AB
HlgCB	Gamma hemolysin CB	Gamma-hemolysin CB
IFN- γ	Interferon gama	Interferon gama
IgA	Imunoglobulin A	Imunoglobulin A
IgG	Imunoglobulin G	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M	Imunoglobulin M
IL-4	Interleukin 4	Interleukin 4
IL-8	Interleukin 8	Interleukin 8
iLDH	Inducibilní laktát dehydrogenáza	Inducible lactat dehydrogenase
IsdA	Železem redukovaný povrchový determinant	Iron-regulated surface determinant A
kDa	Kilodalton	Kilodalton
LukAB	Leukocidin AB	Leukocidin AB
LukED	Leukocidin ED	Leukocidin ED
LukPQ	Leukocidin PQ	Leukocidin PQ

LTA	Lipoteichoová kyselina	Lipoteichoic acid
Lys-PG	Lyzyl-fosfatidylglycerol	Lysyl-phosphatidylglycerol
MRSA	Meticilin rezistentní <i>S. aureus</i>	Methicilin resistant <i>S. aureus</i>
MSCRAMM	Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules	Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules
MurNAc	N-acetylmuramová kyselina	N-acetylmuramic acid
NADPH	Nikotinamidadenindinukleotid fosfát	Nikotinamidadenindinukleotid phosphate
NET	Neutrofilní extracelulární past	Neutrofil extracellular trap
Nuc	Nukleáza	Nuclease
<i>oatA</i>	Gen pro O-acetyltransferázu	
PAMP	Pathogen associated molecular patterns	Pathogen associated molecular patterns
PVL (LukSF-PV)	Pantone-Valentinův leukocidin	Pantone-Valentine leukocidin
PRR	Pattern recognition receptors	Pattern recognition receptors
ROS	Volné kyslíkové radikály	Reactive oxygen species
SCV	Trpasličí kolonie	Small colony variant
SOD	Superoxid dismutáza	Superoxid dismutase
SodA	Superoxid dismutáza A	Superoxid dismutase A
<i>sodA</i>	Gen pro superoxid dismutázu A	
SodM	Superoxid dismutáza M	Superoxid dismutase M
<i>sodM</i>	Gen pro superoxid dismutázu M	
SspA	serinová proteáza A <i>S. aureus</i>	Staphylococcus aureus serine protease
vWbp	von Willebrandův faktor	Von Willebrand factor
TLR	Toll-like receptor	Toll-like receptor
WT	„divoký“ kmen	Wild type
WTA	Teichoová kyselina	Wall teichoic acid

Abstrakt

Cílem této práce je shrnout mechanismy interakce *Staphylococcus aureus* s vybranými složkami vrozené imunity hostitele, z nichž k nejdůležitějším patří kolonizace hostitelské buňky a interakce *S. aureus* s neutrofily a procesy ovlivňující na buněčné úrovni kolonizaci hostitelské buňky. Povrchové proteiny patogena MSCRAMM interagující s proteiny na povrchu hostitelských buněk jako je například fibrinogen a keratin a tak zprostředkují adhezi k hostitelské buňce, která je podmínkou pro kolonizaci hostitelské buňky. Centrálním mechanismem vrozené imunity vůči stafylokokové infekci je interakce *S. aureus* s neutrofily, které pomocí neutrofilové extracelulární pasti a fagocytózy buňky *S. aureus* likvidují. Zásadní roli při eliminaci bakteriální buňky ve fagozomu neutrofilů je kombinace lytického působení antimikrobiálních peptidů a produkce toxických kyslíkových radikálů. Obranné mechanismy *S. aureus* proti působení imunitního systému jsou považované za faktory virulence, neboť přispívají ke vzniku infekce. Tyto mechanismy jsou založeny na modifikaci buněčné stěny, inhibicí chemotaxe neutrofilů a produkcí enzymů, které inhibují účinek antimikrobiálních peptidů, lysozymu, kyslíkových a dusíkových radikálů. Exprese těchto faktorů virulence u konkrétního kmene *S. aureus* a rizikové faktory na straně hostitele a můžou vést přes úspěšnou kolonizaci hostitele až k rozvinutí lokální nebo závažné systémové infekce.

Klíčová slova:

Staphylococcus aureus, vrozená imunita, adheze, fagocytóza, mechanismy interakce, intracelulární cyklus

Abstract

The aim of this thesis is to summarize *S. aureus* interactions with selected mechanisms of innate host immunity especially interactions with neutrophils and processes on the cell level which lead to host colonization. *S. aureus* surface proteins MSCRAMM interact with host cell surface proteins such as fibrinogen, keratin and thereby mediate adhesion to the host cell, which is an essential point for colonization of the host cell. The central mechanism of innate immunity against any *S. aureus* infection is the interaction of the pathogen with neutrophils, which produce neutrophil extracellular traps and phagocytose *S. aureus* cells. A crucial role in the elimination of bacterial cells in the phagosome of neutrophils is lysis by the antimicrobial peptides and degradation of bacterial biomolecules by the oxygen radicals. *S. aureus* defence mechanisms against action of immune system are considered to be virulence factors, due to its contribution to the establishment of the infection. These mechanisms are based on cell wall modification, inhibition of neutrophil chemotaxis, and production of enzymes that inhibit the effect of antimicrobial peptides, lysozyme, oxygen and nitrogen radicals. Expression of virulence factors of a particular *S. aureus* strain and host-specific risk factors can lead through successful colonization of the host to the origin of a local or severe systemic infection.

Key words:

Staphylococcus aureus, innate immunity, adhesion, phagocytosis, mechanisms of interaction, intracellular cycle

1. Úvod

Staphylococcus aureus je významným podmíněným bakteriálním patogenem člověka a zvířat. Lze je mikroskopicky pozorovat přímo v klinickém materiálu nebo po kultivaci jako grampozitivní koky uspořádané do shluků ve tvaru hroznů. Hostitele kolonizuje bez příznaků infekce, ale také může způsobit lokální nebo systémovou infekci se závažným průběhem a letálním koncem. Infekce způsobené *S. aureus* mají různou lokalizaci. Jedná se zejména o infekci kůže a měkkých tkání, kde rizikovým faktorem je poškození intaktní kůže vlivy např. poraněním (infekce ran). Komplikací lokální infekce může být systémová stafylokoková infekce jako např. infekce krevního řečiště a infekční endokartitida. Kmeny *S. aureus* mohou být rezistentní k methicilinu (*methicilin resistant Staphylococcus aureus* – MRSA), což představuje jeden ze závažných problémů bakteriálních infekcí současného zdravotnictví. Kmeny MRSA jsou zařazeny mezi šestici bakteriálních druhů souhrnně nazývaných ESKAPE patogeny, což je akronym z počátečních písmen těchto bakterií: *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter* spp. a zároveň slovní hříčka odkazující na multirezistentní nebo panrezistentní bakterie k antibiotikům, které „unikají“ (anglicky *escape*) našim možnostem účinné antibiotické léčby.

S. aureus je na rozdíl od ostatních stafylokoků koaguláza pozitivní. *S. aureus* produkuje dvě koagulázy – stafylokoagulázu a von Willebrandův faktor (vWbp). Jeho N-terminální konec je homologní ke stafylokoaguláze a má koagulázovou aktivitu. Koaguláza indukuje přeměnu protrombinu na fibrin (Bjerketorp, Jacobsson, and Frykberg 2004).

Člověk jako hlavním hostitel *S. aureus* je často kolonizován již brzy po narození. Dle doby trvání se nosičství rozděluje na perzistentní (v řádu měsíců až let) a intermitentní (trvající řádově týdny). Existuje také skupina, která je k nosičství odolná. Studie prevalence nosičství *S. aureus* ukazují variabilní proporci pohybující se mezi 20 a 60 % testované populace (Eriksen et al. 1995). Zároveň byly identifikovány některé faktory na straně hostitele, které nosičství ovlivňují. Mezi ně patří nepřekvapivě také faktory přímo či nepřímo ovlivňující funkci imunitního systému, jako je například množství vitamínu D (Messaritakis et al. 2014), nadváha, diabetes, atopická dermatitida.

Pokud se zaměříme na schopnost vyvolat infekci, *S. aureus* produkuje řadu faktorů virulence, které zprostředkovávají interakci s organismem hostitele. Podle funkce se dají rozdělit na adhezíny, invazíny a evazíny. Adhezíny zprostředkovávají adhezi k povrchu hostitelských buněk nebo k poškozené tkáni a jsou klíčové k uchycení bakterie v organismu

hostitele. Invazíny přispívají k destrukci tkáně, a umožňují pronikat tkáňmi hostitele jako je kůže a podkoží, dále také mohou podporovat příjem železa a dalších živin. Evasiny chání *S. aureus* před imunitním systémem člověka a manipulují s vrozenou a adaptivní imunitou hostitele například tím, že lyzují buňky imunitního systému hostitele (Wang et al. 2007). Jak některé invazíny, tak evazíny mohou být označovány také jako toxiny. Tato bakalářská práce se zabývá interakcí *S. aureus* s imunitním systémem člověka a zejména s mechanizmy vrozené imunitní odpovědi. Z důvodů rozsahu se práce podrobněji nezabývá mechanizmy adaptivní imunitní odpovědi proti *S. aureus*.

2. Kolonizace a infekce hostitelské buňky

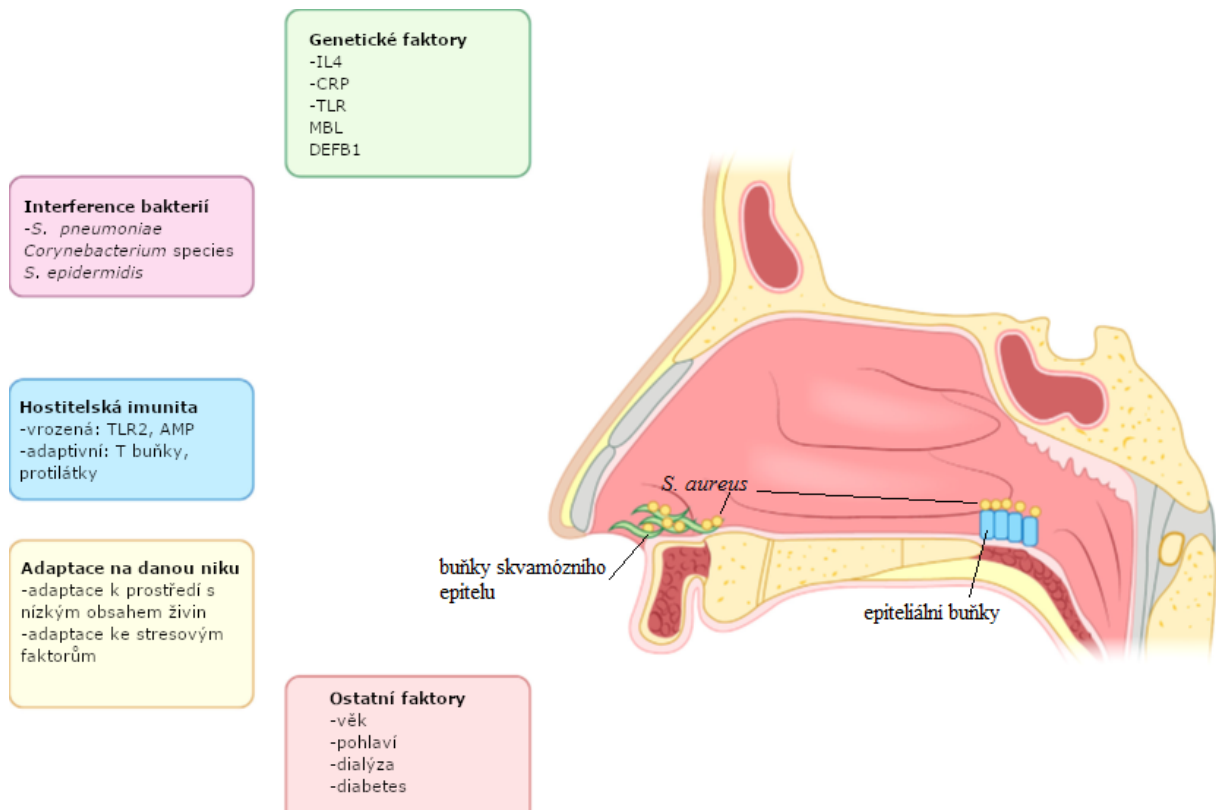
S. aureus může hostitele kolonizovat, což může být rizikem pro vznik stafylokokové infekce. Studium genetické vnímavosti ke kolonizaci a infekci *S. aureus* je složité, protože citlivost hostitele k *S. aureus* a závažnost onemocnění je podmíněna variabilitou faktorů virulence na straně konkrétního stafylokokového kmene. Některé geny pro faktory virulence, jako jsou adheziny a toxiny, jsou zatím neznámé. Pravděpodobnost nosičství *S. aureus* může být ovlivněna stresem, známými nebo neznámými polymorbidními stavy (více onemocnění současně (Niemann et al. 2012) nebo genetickým vlivem (Nelson et al. 2014). Vzhledem k nosičství *S. aureus* rozlišujeme tři typy: perzistentní a transientní nosiče a jedince, kteří jsou ke kolonizaci *S. aureus* rezistentní (Belkum et al. 2009).

Zdrojem stafylokokové kolonizace případně infekce je nejčastěji přímý kontakt s pacientem nebo nosičem *S. aureus*. Zdrojem může být rovněž prostředí, nejčastěji nemocnice, kde *S. aureus* díky své odolnosti k vyschnutí může dlouhou dobu přežívat zejména na různém povrchu nebo může kontaminovat zdravotnický materiál nebo přístroje. Prvním krokem samotné kolonizace hostitele je adheze patogena k povrchu hostitelské buňky. Klíčovou roli pro vznik infekce *S. aureus* hraje jeho afinita a přítomnost na nosní sliznici (Von Eiff et al. 2001). Produkce adhezínů probíhá v první fázi růstu a přichycení *S. aureus* k hostitelské buňce na nosní sliznici, zatímco produkce toxinů nastává až v pozdější fázi kolonizace nebo infekce *S. aureus* (Burian, Wolz, and Goerke 2010).

Jedním z rizikových faktorů infekce *S. aureus* je jeho nosičství. Velkým rizikem pro vznik infekce je porušení kůže a měkkých tkání. Nesmíme opomenout ani implantace, které jsou velmi náchylné na infekci *S. aureus*. Problém bývá také u pooperačních stavů, kdy je do těla zaveden katetr.

Mezi genetické faktory ovlivňující pravděpodobnost nosičství patří polymorfismus DEFB1 (*defensin beta 1*), který ovlivňuje množství beta defenzinu 1 a ovlivňuje vnímavost ke stafylokokové infekci (Nurjadi et al. 2013). Ostatní faktory nasální kolonizace jsou uvedeny na obrázku č. 1. Zajímavá je interference *S. aureus* s některými bakteriemi. Je prokázáno, že přítomnost *Corynebacterium species* či *Staphylococcus epidermidis* snižuje pravděpodobnost nosičství *S. aureus* (Lina et al. 2003). K rizikovým faktorům nosičství *S. aureus* můžeme zařadit také věk, kdy se zvyšujícím se věkem se zvyšuje pravděpodobnost nosičství a následně infekcí. Velkou roli v tom hraje i přítomnost nemocničních kmenů *S. aureus*, hlavně MRSA.

Mezi antistafylokokové protilátky patří IgG, IgA a IgM. Jejich hladina v lidském těle je variabilní. Roli v této variabilitě hrají předchozí setkání s *S. aureus* a schopnost daného hostitele se proti patogenům bránit. Hladina antistafylokokových protilátek se také liší mezi perzistentními nosiči a nekolonizovanými jedinci. U perzistentních nosičů je hladina protilátek IgA a IgG vyšší (Verkaik et al. 2009).



Obrázek č.1 – Hostitelské a bakteriální faktory kolonizace *S. aureus*. *S. aureus*, který je na tomto obrázku vyobrazen pomocí žlutých kuliček adhezuje jak ke skvamóznímu epitelu (zelené buňky), tak k buňkám vnitřní nosní dutiny (modré buňky). Nosičství *S. aureus* je složitý proces, který je ovlivněn mnoha faktory. Genetické faktory jako polymorfismus IL4, TLR (*toll-like receptor*) nebo DEFB1, což jsou geny kódující faktory spojené s lokální imunitou korelují s perzistentním nosičem. Je prokázána vyšší hladina antistafylokokových protilátek u perzistentních nosičů, než u jedinců, kteří mají k nosičství *S. aureus* rezistenci. Zvýšená tvorba antimikrobiálních peptidů (AMP) může snížit kolonizaci *S. aureus*. Interference bakterií se také počítá jako faktor, který může ovlivnit kolonizaci *S. aureus*. Komenzální bakterie, jako např. *Staphylococcus epidermidis* může kompetovat o místo na hostiteli. Hladina protilátek může ovlivnit případnou infekci hostitele. Důležité pro *S. aureus* jsou také geny kódující toleranci ke stresovým faktorům, jako např. mechanickým silám, které způsobuje průtok tekutin. Je prokázáno, že na nosičství má také vliv kouření, diabetes, dialýza a věk. Převzato a upraveno z Mulcahy and Mcloughlin 2016 (Mulcahy and Mcloughlin 2016)

2.1 Adheze k hostitelské buňce

Adheze je zprostředkována CWA (*cell wall anchored*) proteiny, což jsou povrchové proteiny vázané k peptidoglykanu stafylokokové buňky, které jsou klíčové pro patogenitu bakterie a dělí se do čtyř skupin. *S. aureus* produkuje 24 různých CWA proteinů, zatímco koaguláza-negativní stafylokoky jich produkují méně (Bowden et al. 2005). CWA proteiny jsou multifunkční, zajišťují kolonizaci tkáně a ochranu před imunitním systémem.

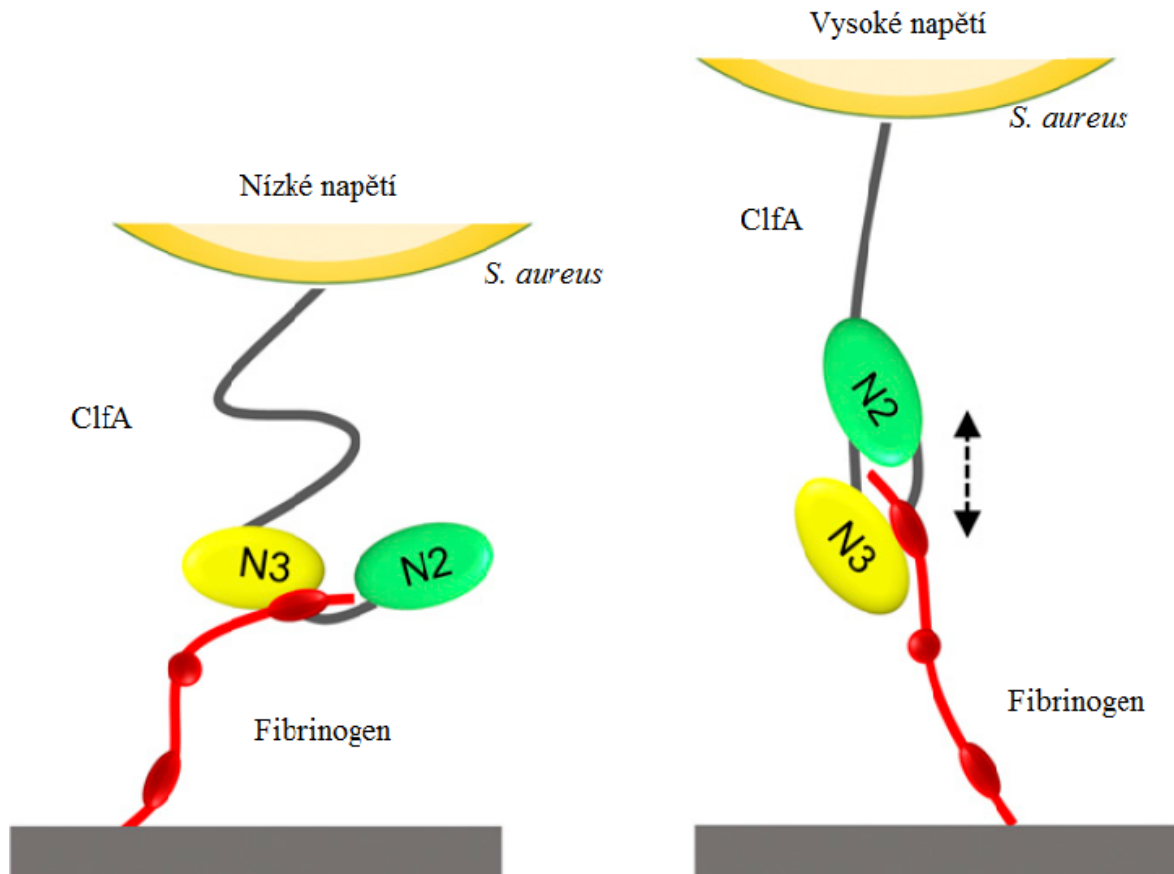
Molekuly MSCRAMM (*microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*) jsou tou největší skupinou CWA proteinů. Mezi hlavní funkce těchto proteinů se řadí adheze a invaze do hostitelských buněk (Herman-Bausier et al. 2018; Vitry et al. 2017), ochrana před imunitní odpovědí a tvorba biofilmu (Li et al. 2012). Tyto molekuly se vážou na hostitelské proteiny, např. na fibrinogen, fibronectin, kolagen, elastin a na kostní sialoprotein (O'Brien et al. 2002).

Adheze je komplexní proces, při kterém patogenní organizmy při adhezi k hostitelské buňce musejí odolávat mnoha faktorům, jako jsou mechanické síly při průtoku tekutin či interakcí buňka-buňka. *S. aureus* používá na obranu proti mechanickému stresu povrchové proteiny vážící se k hostitelským extracelulárním proteinům a tvorbu biofilmu. Jedním z povrchových proteinů *S. aureus* je ClfA (*clumping factor A*), který se váže k fibrinogenu. Vazba ClfA – fibrinogen je zásadní pro adhezi *S. aureus* k hostitelské buňce. Interakce ClfA – fibrinogen je zprostředkována dvěma různými vazebnými místy na každé molekule. Pokud na interakci ClfA – fibrinogen nepůsobí žádná výrazná vnější síla, fibrinogen se váže prostřednictvím slabých vazeb na horní část ClfA domény N3. V okamžiku, kdy se zvýší mechanické napětí, dojde ke konformační změně v molekule ClfA a spustí se DLL (*dock, lock, and latch* – „zapadnout, zamknout, zajistit) interakce prostřednictvím subdomén ClfA N2N3 (viz obr. č. 2) (Herman-Bausier et al. 2018). Obdobným mechanismem může interagovat také příbuzný protein ClfB (*clumping factor B*) s lorikrinem, který se exprimuje na povrchu buněk skvamózního epitelu (Vitry et al. 2017).

ClfB spolu s IsdA (*iron-regulated surface determinant A*) jsou nejdůležitějšími proteiny zprostředkovávající adhezi k epitelu nosní sliznice. Na této adhezi se mohou pravděpodobně podílet ještě další faktory (Corrigan, Miajlovic, and Foster 2009). ClfB je faktor řadící se do skupiny adhezínů MSCRAMM. Strukturální genem je *clfB* a k jeho transkripci dochází na epitelu nosní sliznice. ClfB se váže na lorikrin, který má velmi podobnou strukturu a je součástí buněčného obalu hostitelské buňky. Vazba *S. aureus* na epiteliální buňky nosní sliznice je závislá na vazbě ClfB s lorikrinem. Vazebné místo pro lorikrin se nachází na subdoméně ClfB

N2N3, stejně jako tomu je u vazebního místa pro fibrinogen u ClfA. (Mulcahy et al. 2012). ClfB podporuje adhezi k nosním epiteliálním buňkám také prostřednictvím interakce s cytokeratinem typu K10, tím že znehybní epidermální keratin, takže se na něj *S. aureus* může navázat. ClfB se váže na cytokeratin typu K10 pomocí C-terminální domény. Pokud máme mutanta v ClfB, tak se *S. aureus* na imobilizovaný epidermální cytokeratin nenaváže (O'Brien et al. 2002).

Obrázek č. 2 – Interakce ClfA s fibrinogenem, rozdíl mezi mechanickým napětím. V případě nízkého



napětí mezi buňkou *S. aureus* a fibrinogenem, kdy na interakci nepůsobí žádná významná síla je interakce zprostředkovaná z hlediska *S. aureus* pouze ze subdomény N3 ClfB. V okamžiku zvýšení napětí se interakce ClfB – fibrinogen zesiluje a interakce se účastní i subdoména N2 ClfB. Při vysokém napětí je druh interakce tzv. „dock, lock and latch“, kdy je vazba mnohem silnější, než při nižším napětí. Převzato a upraveno podle Geoghegan, Joan N., Dufrene 2018 (Geoghegan, Joan A., Dufrene 2018)

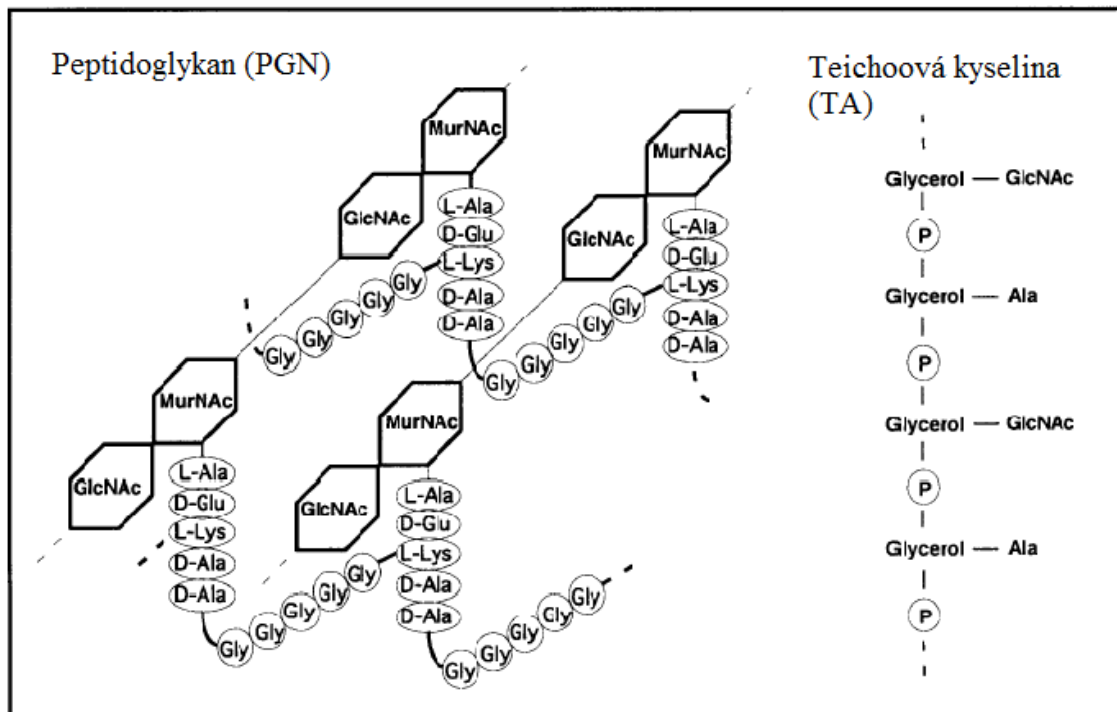
ClfA i ClfB mají vysokou mechanickou stabilitu – síla jejich interakcí a vazeb se vyrovná kovalentním vazbám, zároveň mají velkou výhodu ve změnách síly jejich interakcí. To má pro *S. aureus* velký význam v adhezi, ať už k hostitelské buňce nebo hostitelským implantátům.

2.1.1 Složky buněčné stěny

Buněčná stěna u *S. aureus* se skládá zejména z peptidoglykanu a teichoových kyselin. Peptidoglykan se vyskytuje u grampozitivních i gramnegativních bakterií, liší se u nich však procentuální zastoupení. Tvoří okolo 90% hmotnosti buněčné stěny a je vystaven vnějšímu prostředí na rozdíl od gramnegativních bakterií, kde na velmi tenkou buněčnou stěnu přiléhá vnější membrána.

Peptidoglykan u *S. aureus* je polymer β 1-4 glykosidicky vázaných N-acetylglukosaminů (GlcNAc) a N-acetylmuramové kyseliny (MurNAc), které jsou propojeny krátkými peptidy prostřednictvím laktylové skupiny MurNAc molekul (viz. obr. č. 3).

Obrázek č. 3 – Struktura peptidoglykanu a teichoových kyselin. Peptidoglykan je polymer, který se skládá



z disacharidového polymeru tvořeného N-acetylglukosaminy spojeného s N-acetylmuramovou kyselinou. Na MurNAc navazuje krátký polypeptid tvořený alaninem, kyselinou glutamovou, lysinem a dvěma D-alaniny. Krátký řetězec glycinů propojuje dva sousední peptidové řetězce. Z jedné strany přes D-alanin a z druhé přes L-lysín. Kostra teichoových kyselin je tvořena molekulami glycerolu spojenými fosfátem. Tato fosfátová kostra má záporný náboj. Na glycerolu se střídá GlcNAc s alaninem. D-alanin zmírňuje záporný náboj fosfátové kostry. Peptidoglykan je s WTA (*wall teichoic acid*) propojen prostřednictvím vazby GlcNAc fosfát z WTA s MurNAc z peptidoglykanu. Převzato a upraveno podle Palaniyar, Nadesalingam a Reid 2002 (Palaniyar, Nadesalingam, and Reid 2002)

Teichoové kyseliny jsou důležitou složkou buněčné stěny mnoha grampozitivních bakterií, včetně *S. aureus*. Pokud jsou tyto kyseliny vázány na peptidoglykan, nazývají se WTA

(*wall teichoic acid*). Pokud jsou spojeny s cytoplazmatickou membránou, nazýváme je LTA (*lipoteichoic acid*). Mezi funkce teichoových kyselin patří obrana proti poškození buněk – např. rezistence k AMP (Peschel et al. 1999) a adheze k epiteliálním a endoteliálním buňkám (Weidenmaier et al. 2004, 2008).

U *S. aureus* se jedná o kyselinu teichoovou s polyribitolfosfátem a N-acetylglukosaminovými substituenty ribitolu (viz obr. č. 3). Nejméně 12 genů se podílí na biosyntéze WTA. První krok biosyntézy WTA zajišťuje gen *tagO*, který kóduje N-acetylglukosaminfosfát transferázu (Soldo, Lazarevic, and Karamata 2002). Pro následnou modifikaci pomocí D-alaninu a hexóz jsou nutné další geny. WTA je propojena s peptidoglykanem prostřednictvím fosfodiesterové vazby mezi GlcNAc-1-fosfátem a uhlíkem C6 z MurNAc na peptidoglykanu (Kurokawa, Takahashi, and Lee 2016).

WTA je nezbytná pro nasální kolonizaci hostitele – zprostředkovává adhezi na nasální epiteliální buňky (Weidenmaier et al. 2004) a také chrání *S. aureus* před kožními antibakteriálními mastnými kyselinami (Kohler, Weidenmaier, and Peschel 2009). Enzymy, které se podílejí na remodelaci buněčné stěny se také podílejí na rezistenci vůči antimikrobiálním peptidům (Burian, Wolz, and Goerke 2010).

2.1.2. Biofilm

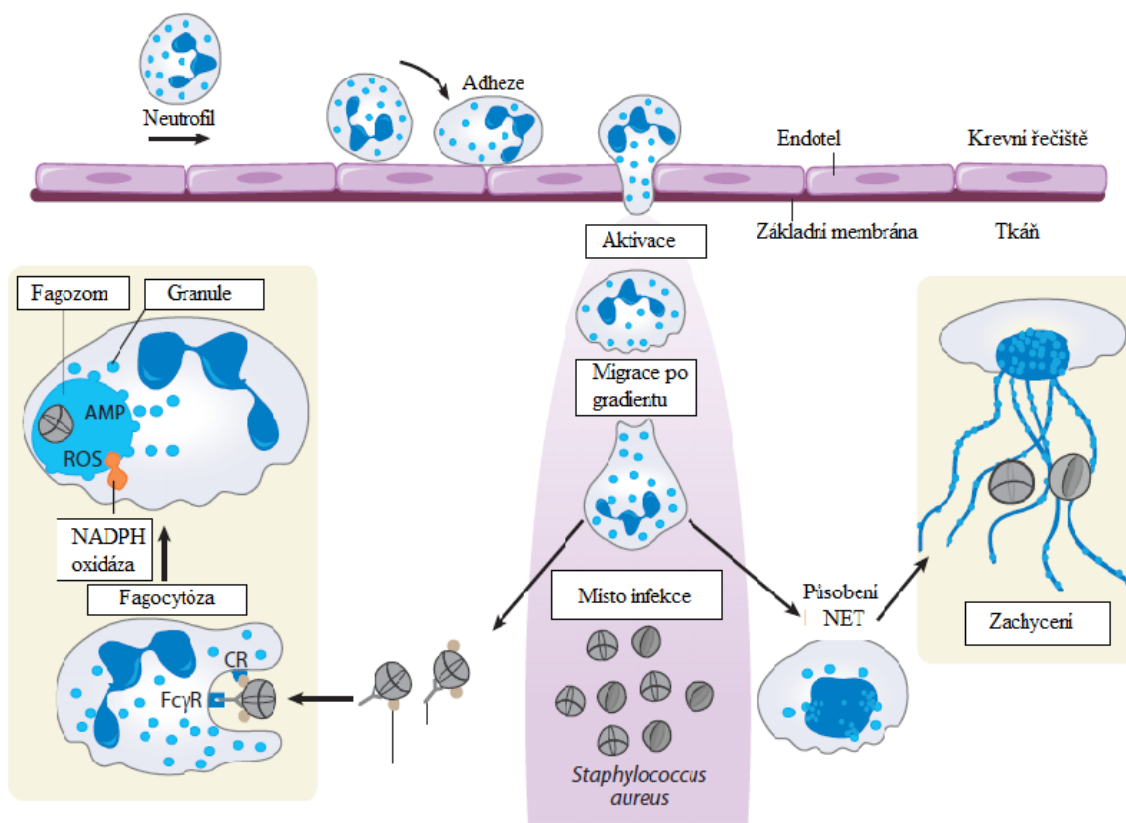
Biofilm je tvořen mikroorganismy a extracelulární matricí složenou z polymerních molekul, které tyto organismy produkují. Role *S. aureus* v interakci s hostitelem je pravděpodobně menší než u jiných bakteriálních patogenů a proto se o něm bakalářská práce zmiňuje pouze okrajově. Biofilm *S. aureus* se skládá ze samotných bakterií, hostitelských faktorů, degradovaných proteinů, polysacharidů a extracelulární DNA (eDNA). eDNA, je záporně nabitá, takže působí jako elektrostatický polymer, který ukotvuje bakteriální buňky k buňkám hostitele a stabilizuje celý komplex (Allesen-Holm et al. 2006). Biofilm může mechanicky zabraňovat kontaktu s makrofágy a tak snižovat jejich účinek (Thurlow et al. 2012). Tvorbu biofilmu můžeme rozdělit na tři stadia: přichycení k povrchu hostitelské nebo arteficiální tkáně umělých náhrad, maturace (zrání) biofilmu a uvolnění z biofilmu, aby se planktonické bakterie mohly šířit dál. K uvolnění z biofilmu *S. aureus* používá cysteinové proteázu staphopain (Mootz et al. 2013), V8 serinové proteázu SspA (O'Neill et al. 2008) a nukleázy Nuc (Kiedrowski et al. 2011). Biofilm slouží rovněž jako částečná ochrana proti některým antibiotikům, protože zhoršuje jejich přístup k samotným bakteriálním buňkám. Velkou roli hraje tvorba biofilmu zejména u chronických infekcí *S. aureus*, díky němuž se

stafylokok přichytává např. ke kostní matrix nebo může perzistovat v osteoblastech nebo buňkách endokardu, což může být následně příčinou osteomyelitidy nebo endokarditidy. Velký problém je také tvorba biofilmu na implantovaných materiálech (Kiedrowski and Horswill 2011). Biofilm je rovněž rizikovým faktorem pro progresi chronické infekce. Může za to třetí stadium tvorby biofilmu – uvolnění planktonických buněk z biofilmu a rozšíření biofilmu. Po uvolnění mohou také planktonické buňky kolonizovat a následně způsobit lokální nebo systémovou infekci, včetně akutní sepse (Costerton, Stewart, and Greenberg 1999).

3. Interakce *Staphylococcus aureus* s neutrofilý

Za první linii obrany člověka proti patogenům se dá považovat neporušený povrch kůže a sliznic. Pokud je povrch těla porušen, ať už mechanickými, chemickými nebo jinými vlivy, stafylokoky nemusí překonávat tuto mechanickou bariéru a snáze infikují hostitele. V tu chvíli nastupuje imunitní odpověď hostitele, kde proti *S. aureus* působí nejvýznamněji zejména neutrofilý a složky komplementové kaskády.

Neutrofilý jsou jednou z nejdůležitějších složek imunitního systému v obraně proti mikrobiální infekci. Imunitní odpověď zprostředkovaná neutrofilý probíhá v několika krocích. Volně cirkulující neutrofilý jsou nejprve aktivovány přítomností chemokinů (viz obr. č. 4), jako jsou například proteiny komplementu C3a a C5a, interleukin-8 (IL-8) a interferon gamma (IFN- γ). Mezi další chemoatraktanty patří struktury společné bakteriím, jako např. fMLP (N-formyl-methionyl-leucylfenylalanin).



Obrázek č. 4 – Znázornění migrace neutrofilu do místa zánětu. Neutrofil migruje krevním řečištěm, po zachycení chemoatraktantů se diapedézou dostává do tkáň, kde migruje po chemickém gradientu do místa infekce. Tam po detekci patogena spouští fagocytózu a následnou eliminaci patogena ve fagozomu nebo pomocí granulí, nebo spouští neutrofilovou extracelulární past, kdy neutrofil zlyzuje a patogen se zachytí ve zlyzovaném materiálu. Převzato a upraveno podle Spaan et al. (Spaan et al. 2013).

Aktivované neutrofiley putují do místa infekce řízeny vzrůstající koncentrací chemokinů. V místě infekce neutrofiley rozeznávají a fagocytují patogenní bakterie a likvidují je kombinací působení antimikrobních proteinů, peptidů a volných kyslíkových radikálů (ROS). Neutrofiley v místě infekce dále produkují chemokiny a zpětnou vazbou zesilují imunitní reakci. Při dlouhotrvajícím zánětu jsou aktivovány i složky adaptivní imunitní odpovědi. Pro zabránění nadbytečného poškození infikované tkáně je nutná kontrola imunitní odpovědi, která je zprostředkována kontrolovanou buněčnou smrtí neutrofilů (apoptózou) poté, kdy je infekce potlačena. Fagocytóza apoptických neutrofilů makrofágy má protizánětlivé účinky a stimuluje sekreci protizánětlivých cytokinů. Postupně dochází ke zhojení poškozené tkáně.

3.1 Selektivní lýza neutrofilů

Jednou ze strategií obrany *S. aureus* před buněčnou složkou lidského imunitního systému je také selektivní lýza bílých krvinek včetně neutrofilů. *S. aureus* produkuje řadu cytotoxinů, mezi tyto toxiny patří zejména leukocidiny, které vysoce specificky lyzují buňky imunitního systému. U izolátů *S. aureus* humánního původu bylo dosud identifikováno pět různých druhů leukocidinů: Panton-Valentinův Leukocidin (PVL, LukSF-PV), gamma-hemolysin AB a CB (HlgAB a HlgCB), Leukocidin ED (LukED), Leukocidin AB (LukAB, také známý jako LukGH), jejichž aktivita se může při současné expresi jak vzájemně potencovat tak inhibovat (Yoong and Torres 2015). Další druhy leukocidinů byly objeveny u izolátů původem ze zvířat jako například LukPQ (Koop et al. 2017). PVL patří mezi nejpotentnější leukocidiny specificky působící na lidské neutrofiley (Löffler et al. 2010; Spaan et al. 2015). PVL stejně jako ostatní leukocidiny je dvousložkový póry tvořící toxin. Po rozeznání receptoru S-podjednotkou dochází u leukocidinů k interakci s F podjednotkou a hetero-oligomerizaci za vzniku póru vedoucímu k úniku buněčného obsahu a smrti cílové buňky. Mezi známé receptory pro PVL na povrchu neutrofilů patří proteiny C5aR a CD45 (Spaan et al. 2013; Tromp et al. 2018). PVL má dvě proteinové podjednotky, LukS-PV a LukF-PV. Vazebné místo PVL, LukS-PV se váže na ECL2 (extracellular loop) doménu receptoru C5aR (Spaan et al. 2015). Tato interakce je nezávislá na N-terminální doméně, na rozdíl od CHIPS (*chemotaxis inhibitory proteins Staphylococcus aureus*, viz kapitola 3.2), která se váže na N-terminální doménu a inhibuje tak celou délku C5a (Spaan et al. 2013; C. J. C. de Haas et al. 2004). Vazba LukS-PV s C5a je zprostředkována oběma receptory C5a, C5aR a C5L2. Vazba LukS-PV a C5L2 je exprimována méně, vazbu na neutrofiley tedy ovlivňuje hlavně C5aR. Oba tyto receptory byly identifikovány na monocytech a neutrofilech, na lymfocytech nebyly detekovány (Spaan et al. 2013).

Nekontrolovaná smrt a lýza neutrofilů a jiných leukocytů je potenciálně velmi nebezpečná situace pro lidský organizmus. Při nekróze neutrofilů dochází k uvolnění vnitřního obsahu těchto buněk, které vzhledem ke své funkci obsahují řadu toxických substancí a lytických enzymů. Proteázy uvolněné z destruovaných neutrofilů mohou poškodit okolní tkáň, čemuž je zabráněno přítomností inhibitoru proteáz v lidském séru. Pokud dojde ke stafylokokové infekci v místě, kde nejsou přítomny sérové inhibitory proteáz (např. infekce kůže nebo dolních cest dýchacích) a zároveň je přítomno velké množství neutrofilů (např. při chřipce), může mít produkce PVL toxinu a následná masivní lýza neutrofilů s uvolněním proteáz a dalších toxických substancí devastující účinek na okolní tkáň (Niemann et al. 2012). Takovéto infekce zejména tzv. nekrotizující pneumonie mohou mít závažný a rychlý průběh s vysokou mortalitou (Rájová et al. 2016).

Důležitou látkou pro přežití *S. aureus* v neutrofilech jsou PSM (*phenol soluble modulins*). Tyto polypeptidy jsou dlouhé cca 20-45 AMK. Mezi jejich vlastnosti patří stimulace chemotaxe neutrofilů pomocí FPR2 (*formyl peptide receptor-like 1*), kdy tuto stimulaci inhibuje FLIPr (Kretschmer et al. 2010) a síla chemotaxe PSM je srovnatelná se silou chemotaxe fMLP (Liles et al. 2001). Nejdůležitější funkcí PSM je ale lýza mnoha typů eukaryotických buněk: osteoblastů (Cassat et al. 2014), monocytů a neutrofilů (Wang et al. 2007). Účinky PSM se mohou zvýšit za účasti dalších látek, jako např. PVL (Hongo et al. 2009).

3.2 Chemotaxe neutrofilů a její inhibice

Komplement se řadí do vrozené imunitní odpovědi. Je to obranný mechanismus usnadňující fagocytózu a skládající se z biochemické kaskády obsahující přes 20 sérových proteinů, které normálně cirkulují v krvi v inaktivní formě. Hlavní složkou komplementu je 9 sérových proteinů. Má více funkcí: opsonizaci, chemotaxi, prozánětlivou funkci a osmotickou lyzi. Komplement má tři mechanismy aktivace. Klasickou, alternativní a lektinovou, jejíž mechanismus je částečně společný s klasickou cestou. U všech těchto aktivací komplementu vzniká C5a, což je jeden z nejúčinnějších chemokinů. C5a má dva vazebné receptory, C5aR a C5L2. Interakce C5aR a C5a probíhá na dvou místech. Do rozpoznávacího místa C5aR se váže N-terminální konec C5a, zatímco do efektorového místa C5aR se váže C-terminální konec C5a. V případě, že se C5a váže na C5aR pouze N-terminální doménou, C5a ztrácí svou funkci. (Siciliano et al. 1994). Proto má PVL toxin, který rovněž interaguje s C5aR receptorem, zhruba stejnou účinnost jako CHIPS, i když inhibuje pouze C-terminální doménu (viz kap. 3.1). C5a

má více funkcí, mezi něž patří zvýšená exprese adhezivních molekul (Foreman et al. 1994), chemotaxe a fagocytóza.

Chemotaxe je proces, při němž putují látky po nebo proti směru chemického gradientu. U neutrofilů je chemotaxe mimo jiné zprostředkována C5a, kdy neutrofilů putují po směru chemického gradientu C5a až do místa zánětu (viz obr. č. 4). Mezi další silné chemoatraktanty patří fMLP (N-formyl-metionyl-leucylfenylalanin), což je krátký oligopeptid vyskytující se na stafylokokových buňkách a vážící se na formyl peptidový receptor (FPR).

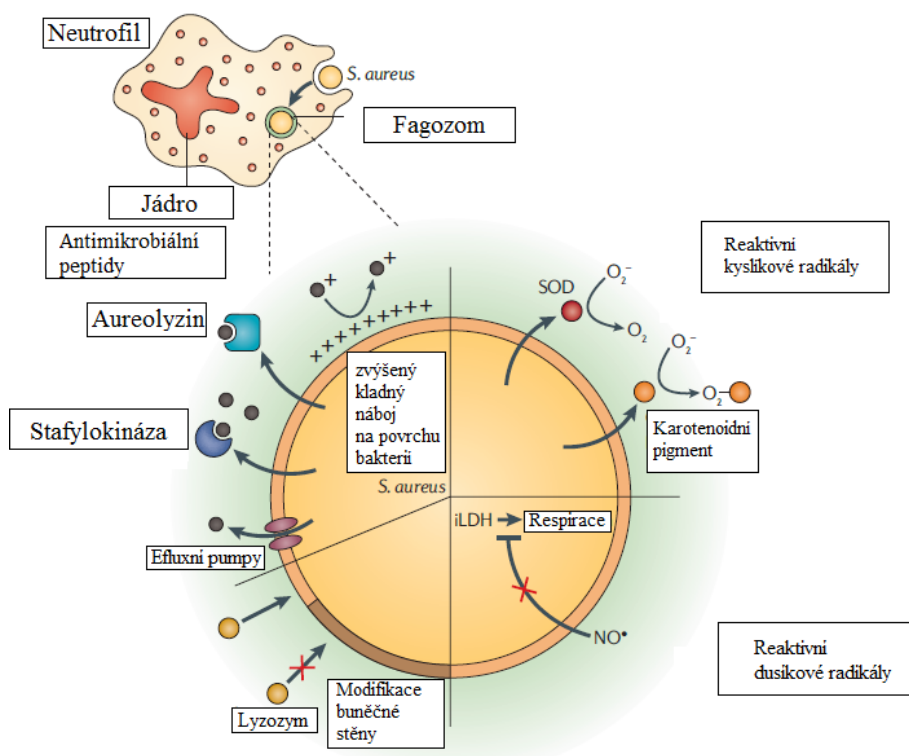
Chemotaxi inhibující protein *S. aureus* (*chemotaxis inhibitory proteins Staphylococcus aureus* - CHIPS) je exoprotein o velikosti 14,1 kDa. Je kódovaný genem *chb*. Specificky se váže k lidským neutrofilům a monocytům, konkrétně k C5aR a FPR, což jsou hostitelské receptory spřažené s G-proteinem. CHIPS má ale jiné vazebné místo pro každý z těchto receptorů. CHIPS působí extracelulárně (Postma et al. 2004; C. J. C. de Haas et al. 2004; P. Haas et al. 2005).

Formyl peptidové receptory (FPR) je skupina receptorů spřažených s G-proteinem. U člověka jsou známy tři paralogy: FPR1, FPR2 (FPR-like 1) a FPR3. Tyto receptory napomáhají imunitnímu systému rozpoznat PAMP (*pathogen associated molecular patterns*), respektive N-formyl peptidy, které se nachází na strukturách bakteriálních buněk.

FLIPr (*formyl peptid receptor-like 1 inhibitory protein*) a FLIPr-like (*formyl peptid receptor-like 1 inhibitory protein-like*) jsou další dva proteiny produkované *S. aureus* inhibující chemotaxi neutrofilů. FLIPr inhibuje FPRL1 (*formyl peptid receptor-like 1*) a FLIPr-like, který má 73% homologii s FLIPr inhibuje mobilizaci vápníku neutrofilů a chemotaxi indukovanou FPRL1 a FPR. FLIPr-like má s FLIPr identických prvních 25 AMK. FLIPr-like má podobně silný účinek jako CHIPS a oba tyto proteiny účinně inhibují chemotaxi neutrofilů vůči fMLP (Prat et al. 2009).

3.3 Fagocytóza a její inhibice

Fagocytóza patří mezi mechanismy vrozené imunity, které slouží k eliminaci patogenů a poškozených buněk vlastního organismu. Je to proces, který zajišťují zejména neutrofilní granulocyty, monocyty a makrofágy, které mají za úkol fagocytovat patogenní mikroorganismy a apoptotické či jinak poškozené buňky vlastního organismu. Tyto profesionální fagocyty rozeznají patogena pomocí konzervovaných struktur nacházejících se na patogenu, tzv. PAMP. Následuje pohlcení patogena a jeho eliminace. Profesionální fagocyty mají na svém povrchu speciální receptory pro rozeznání PAMP, tzv. PRR (*pattern recognition receptors*). Ty po kontaktu s molekulami patogena rozeznají PAMP. Poté je bakteriální buňka postupně obkloповána pseudopodiemi fagocytu, až ji fagocyt celý pohltí a uzavře do vakuoly – fagozomu. Ve fagozomu probíhá eliminace patogena, která je zajištěna pomocí různých baktericidních látek a hydrolytických enzymů (viz obr. č. 5).



Obrázek č.5 – Interakce *S. aureus* s neutrofilny a eliminace jejich účinku. Proti ROS používá *S. aureus* SOD (superoxid dismutáza) a staphyloxantin. SOD přeměňuje kyslíkový radikál na kyslík a staphyloxanthin se na kyslíkový radikál váže. Proti dusíkovým radikálům působí iLDH (inducibilní laktát dehydrogenáza), která je rezistentní k meziproductům a umožňuje dýchání. Dále je významná rezistence vůči antimikrobiálním peptidům a lysozymům. Antimikrobiální peptidy působí na bakteriální buňku kladným nábojem a rozrušují její buněčnou stěnu. *S. aureus* se brání modifikací buněčné stěny, kdy k zápornému náboji fosfátové kostry WTA přidává kladný náboj lyzyl-fosfatidylglycerolu a D-alaninu (viz kap. 3.3.2). Proti lysozymu působí O-acetyltransferáza, která zabraňuje hydrolýze peptidoglykanu. Převzato a upraveno podle Thwaites a Gant (Thwaites and Gant 2011).

Bakterie si v průběhu evoluce vyvinuly mechanismy, které je před těmito způsoby chrání a jsou popsány níže. Obranné mechanismy *S. aureus* fungují na dvou úrovních. Jednak přímo

zabraňují tomu, aby byla bakterie fagocytována, to zahrnuje sekreci polysacharidového obalu, tvorbu biofilmu, inhibici protilátek a komplementu. Za druhé pokud je *S. aureus* fagocytován, dostane se do fagozomu, kde ho neutralizuje působení ROS a oxidu dusného, spolu s antimikrobiálními peptidy a enzymy. Mezi antimikrobiální peptidy a enzymy patří např. lysozym, α -defenziny, katepsiny a myeloblastin. Proti jejich účinkům má stafylokok několik obranných strategií jako je např. syntéza superoxid dismutázy, staphyloxanthinu, inducibilní laktát dehydrogenázy, modifikace buněčné stěny.

3.3.1 Obranné mechanismy *S. aureus* proti radikálům

Neutrofilová extracelulární past (NET) je jeden ze způsobů obrany neutrofilů proti patogenním mikroorganismům. Jsou to extracelulární struktury skládající se z chromatinu a granulí. NET mají za úkol navázat se na mikroorganismus a zlikvidovat ho. NET je závislý na generaci kyslíkových radikálů pomocí NADPH oxidázy. Po aktivaci neutrofilu dochází k dekonduzaci chromatinu a tvorbě vezikul z jaderného obalu. Postupně dochází k rozpadu jaderné membrány a smíchání chromatinu a granulí. Posledním krokem je rozpad cytoplazmatické membrány a vypuštění NET do prostoru. Tvorba NET je proces buněčné smrti, který se ale liší od apoptózy buňky, kdy nedochází k přerušení jaderného obalu a dekonduzaci chromatinu, ale naopak dochází ke kondenzaci chromatinu (Fuchs et al. 2007).

Oxidativní stres je jeden ze způsobů ochrany hostitele před patogenními organizmy. Nejprve vzniká tzv. superoxidový radikál O_2^- , což je molekula kyslíku s jedním připojeným elektronem. Poté z něj vzniká singletový kyslík, peroxid vodíku a hydroxylový radikál. Všechny tyto látky jsou pro mikroorganismus toxické, protože narušují jeho biomolekuly. Např. poškozují mastné kyseliny, lipidy a proteiny. Tvorbu těchto radikálů indukuje NADPH oxidáza, která indukuje i tvorbu dusíkových radikálů, NO^\bullet . Během své evoluce si *S. aureus* vyvinul mnohé obranné mechanismy proti působení neutrofilů (viz obrázek č. 5). Mezi ně patří syntéza enzymu superoxid dismutázy, karotenoidního pigmentu staphyloxanthinu a také syntéza enzymu inducibilní laktát dehydrogenázy (iLDH), která eliminuje účinek NO^\bullet .

Superoxid dismutáza (SOD) je enzym dependentní buď na manganu nebo na železe. U všech stafylokoků se vyskytuje SodA, *S. aureus* má ještě SodM. Oba tyto enzymy jsou cytoplazmatické a dependentní na manganu. SodA je kódovaný genem *sodA*, zatímco SodM je kódován genem *sodM*. Transkripce obou těchto genů je regulována genem *sarA* (Ballal and Manna 2009). SOD chrání bakterii před oxidativním stresem (kyslíkovým radikálům) přeměnou kyslíkového radikálu O_2^- na molekulu kyslíku (viz obr. č. 5).

S. aureus za své druhové jméno vděčí staphyloxantinu, což je žluté karotenoidní barvivo, které produkuje. U staphyloxantinu se předpokládá, že má svůj podíl na virulenci. Produkci staphyloxantinu řídí operon crtOPQMN. Blízce příbuzný druh stafylokoka, *S. argenteus*, který se u člověka také vyskytuje, ale nezpůsobuje závažné infekce, tento operon nemá. Což je jeden z hlavních rozdílů mezi *S. aureus* a *S. argenteus*. Experimentální výsledky testování vlivu vnesení operonu crtOPQMN na virulenci a odolnost k oxidativnímu vzplanutí u *S. argenteus*, ale jednoznačnou závislost produkce staphyloxantinu a virulence neprokázaly (Tong et al. 2013). Strukturální gen *rsbU* kóduje biosyntézu staphyloxanthinu, který funguje jako antioxidant blokující reaktivní kyslíkové radikály tím, že se na ně naváže (Olivier et al. 2009), což je jeden z důvodů, díky kterým bakterie přežívá v neutrofilech (Liu et al. 2005). Případná inhibice staphyloxantinu by mohla mít terapeutický význam v případě léčby (Sakai et al. 2012).

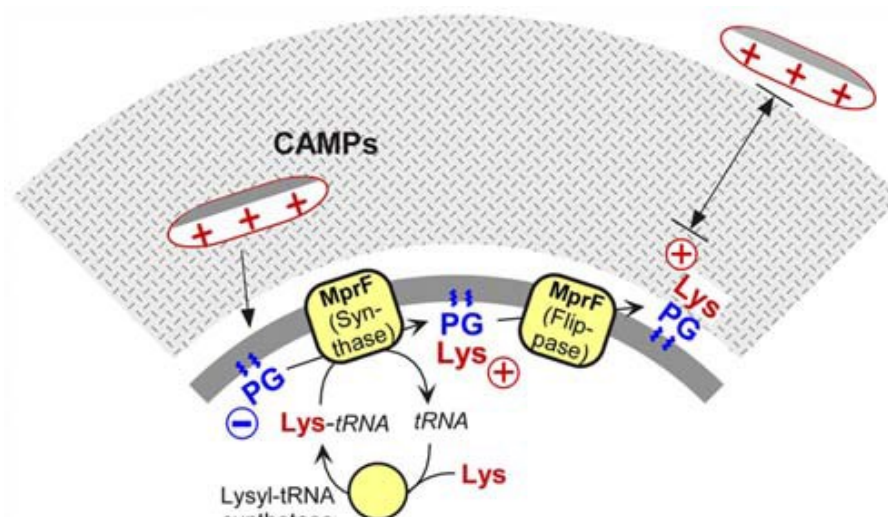
3.3.2 Odolnost k antimikrobiálním peptidům a enzymům

Antimikrobiální peptidy neboli defenziny mají potenciál eliminovat buňky mikrobiálního patogena. Defenziny formálně nepatří ke složkám imunitního systému, stejně jako např. lysozomy (enzymy ve slinách) a antibakteriální mastné kyseliny (*antibacterial fatty acids* – AFA). Defenziny jsou peptidy dlouhé 30-40 aminokyselin. Díky jejich kladnému náboji dochází k reakci se záporně nabitou buněčnou stěnou bakteriální buňky. Kladný náboj zvýší permeabilitu membrány a dojde k osmotické lyzi bakteriální buňky. *S. aureus* je odolný proti naprosté většině defenzinů, které hostitel produkuje. Odolnost proti defenzinům zprostředkují složky buněčné stěny, zejména peptidoglykan a teichoové kyseliny.

Mechanismus rezistence vůči defenzinům je zajištěn *dlt* operonem, který kóduje zabudování D-alaninu do teichoových kyselin. Esterifikace teichoové kyseliny D-alaninem způsobuje snížení záporného náboje fosfátových skupin v teichoových kyselinách a díky tomu je *S. aureus* přirozeně odolný vůči většině defenzinů. Pokud byl nedostatek D-alaninu v teichoových kyselinách vyvolán experimentálně (např. u *Dlt*⁻ mutanta), docházelo k eliminaci stafylokoka pomocí defenzinů. U klinického kmene *S. aureus* (WT, *wild type*), hrají při eliminaci zásadní roli mechanismy závislé na kyslíku (ROS) (Peschel et al. 1999; Collins et al. 2002).

Dalším obranným mechanismem proti defenzinům zajišťuje MprF protein. Je to bifunkční protein s více doménami. Jeho C-terminální doména je zodpovědná za syntézu lyzyl-fosfatidylglycerolu (Lys-PG). N-terminální doména je hydrofobní a translokuje Lys-PG z vnitřní na vnější stranu cytoplazmatické membrány (viz obr. č. 6). Tam je Lys-PG důležitý

pro snížení afinity k antimikrobiálním peptidům. V C-terminální doméně se nachází několik konzervovaných sekvenčních motivů, které jsou stejné u několika různých druhů bakterií (Ernst et al. 2009).



Obrázek č.6 – Mechanismus rezistence vůči defenzinům pomocí MprF. MprF protein zajišťuje syntézu Lys-PG na vnitřní straně cytoplazmatické membrány a zároveň ho translokuje na její vnější stranu. Lys-PG má kladný náboj, který zmírňuje záporný náboj fosfátové kostry WTA a zároveň snižuje afinitu k defenzinům. Převzato a upraveno podle Ernst et al. 2009 (Ernst et al. 2009).

WTA mimo rezistenci k defenzinům zajišťuje také úspěšnou obranu proti antibakteriálním mastným kyselinám. V případě nepřítomnosti WTA v buněčné stěně pronikají hydrofobní mastné kyseliny buněčnou stěnou a vážou se k cytoplazmatické membráně, kterou narušují (Kohler, Weidenmaier, and Peschel 2009). Mezi AFA (*antibacterial fatty acids*) se řadí kyselina palmitoolejová jako největší zástupce AFA, kyselina laurová, která je nejúčinnější AFA. Dále mezi ně patří kyselina palmitová, stearová, olejová a linolová (Lampe et al. 1983).

Lysozomy ničí patogeny hydrolyzací peptidoglykanu. Gen *oatA* kóduje O-acetyltransferázu, která O-acetyluje OH skupinu šestého uhlíku muramové kyseliny peptidoglykanu a tím zabraňuje hydrolyzaci peptidoglykanu a zajišťuje rezistenci vůči lysozymům. Spoluúčast jiných genů na rezistenci k lysozymu nelze vyloučit. WTA jako další složka buněčné stěny nemá na rezistenci k lysozymům vliv (Bera et al. 2005, 2007).

3.4 Intracelulární cyklus

S. aureus byl historicky považován, vzhledem ke své snadné kultivaci *in vitro*, za extracelulárního patogena. V posledních desetiletích se ale objevují důkazy, které poukazují na

ústřední význam schopnosti přežívání uvnitř hostitelských buněk různých typů, pro vznik a šíření stafylokokové infekce. Výše zmíněné mechanismy (kap. 3.3) inhibují fagocytózu a antibakteriální aktivitu neutrofilů a dalších buněk imunitního systému. Tyto mechanismy mohou kromě destrukce buněk hostitele vést také k ustavení intracelulární existence *S. aureus*. Dle hypotézy trojského koně (*trojan horse hypothesis*) jsou tyto buňky imunitního systému esenciální pro schopnost *S. aureus* šířit se v organismu hostitele a způsobit jak lokální, tak systémové infekce (Kubica et al. 2008). Kromě buněk imunitního systému je zřejmé, že *S. aureus* dokáže proniknout a přežít také v buňkách neprofesionálních fagocytů jako jsou endotelové, epiteliální buňky (Garzoni et al. 2007) a keratinocyty (Kintarak et al. 2004). Růst a množení buněk *S. aureus* uvnitř hostitelské buňky umožňuje ochranu před protilátkami, komplementem ale i některými antibiotiky (Mohamed et al. 2014).

Antibiotická léčba zejména u chronických infekcí je významným faktorem pro ustanovení intracelulární perzistence *S. aureus*. Při lokalizaci uvnitř hostitelských buněk se můžou stafylokoky diferencovat do SCV fenotypu (*small-colony variant*), který může přežít v epitelových a endotelových buňkách déle než *S. aureus* s původním fenotypem (Garzoni et al. 2007; Schröder et al. 2006).

SCV (*small-colony variant*) se vyznačují sníženou pigmentací a hemolýzou, zvýšenou odolností vůči aminoglykosidům a nestabilním fenotypem kolonie. SCV obvykle rostou na agaru ve tvaru kolonie volského oka, s vyvýšeným pigmentovaným středem a průhlednými okraji nebo ve formě tečkovitě drobných pigmentovaných kolonií (*pinpoint colonies*), což činí potíže při jejich identifikaci. Kromě aminoglykosidu mohou být také rezistentní k sulfometaxazol/trimetoprimu (Tkadlec et al. 2015).

4. Závěr

Cílem této práce bylo shrnout interakce, kterými se *S. aureus* brání vrozeným imunitním mechanismům hostitele.

Přechod od kolonizace hostitele k infekci způsobené *S. aureus* není jasně vyhraněn. Samotná adheze je zprostředkována povrchovými proteiny, z nichž je nejdůležitější ClfB, který adhuje k lorikrinu, keratinu a je esenciální pro nasální kolonizaci *S. aureus*. V této práci jsou popsány zejména mechanismy interakce *S. aureus* s neutrofily, které tvoří centrální složku obrany proti infekcím způsobenými *S. aureus*. Zásadní z nich je fagocytóza a děje s ní spojené. *S. aureus* se dostává do fagozomu hostitelské buňky, kde na něj působí baktericidní látky, jako jsou antimikrobiální peptidy a radikály, které *S. aureus* eliminuje modifikací cílových struktur buněčné stěny nebo produkcí enzymů inhibující účinek kyslíkových i dusíkových radikálů.

Řada interakcí *S. aureus* s hostitelskou buňkou nebyly pravděpodobně dosud popsány. Důvodem jsou složité struktury a jejich funkce na straně patogena i hostitele a jejich vzájemné interakce a jemné modulace. Ty jsou závislé zejména na přítomnosti rozdílných faktorů virulence u konkrétního kmene *S. aureus*, ale i na individuální komplexnosti a vnímavosti hostitele.

Zkoumání této problematiky je důležité zejména pro cílený výzkum antistafylokokových látek, kterými by bylo možné inhibovat samotnou stafylokokovou kolonizaci.

5. Seznam použité literatury

- *Allesen-Holm, M, KB Barken, L. Yang, M. Klausen, JS. Webb, S. Kjelleberg, S. Molin, M. Givskov, and T. Tolker-Nielsen. 2006. "A Characterization of DNA Release in *Pseudomonas Aeruginosa* Cultures and Biofilms." *Molecular Microbiology* 59 (4): 1114–28.
- Ballal, Anand, and Adhar C. Manna. 2009. "Regulation of Superoxide Dismutase (Sod) Genes by *SarA* in *Staphylococcus Aureus*." *Journal of Bacteriology* 191 (10): 3301–10.
- Belkum, Alex Van, Nelianne J Verkaik, Corné P De Vogel, Hélène A Boelens, Jeroen Verveer, Jan L Nouwen, Henri A Verbrugh, and Heiman F L Wertheim. 2009. "Reclassification of *Staphylococcus Aureus* Nasal Carriage Types." *JID* 199: 1820–26.
- Bera, Agnieszka, Raja Biswas, Silvia Herbert, Emir Kulauzovic, Christopher Weidenmaier, Andreas Peschel, and Friedrich Götz. 2007. "Influence of Wall Teichoic Acid on Lysozyme Resistance in *Staphylococcus Aureus*." *Journal of Bacteriology* 189 (1): 280–83.
- Bera, Agnieszka, Silvia Herbert, Andreas Jakob, Waldemar Vollmer, and Friedrich Götz. 2005. "Why Are Pathogenic Staphylococci so Lysozyme Resistant? The Peptidoglycan O-Acetyltransferase OatA Is the Major Determinant for Lysozyme Resistance of *Staphylococcus Aureus*." *Molecular Microbiology* 55 (3): 778–87.
- Bjerketorp, Joakim, Karin Jacobsson, and Lars Frykberg. 2004. "The von Willebrand Factor-Binding Protein (VWbp) of *Staphylococcus Aureus* Is a Coagulase." *FEMS Microbiology Letters* 234 (2): 309–14.
- Bowden, M Gabriela, Wei Chen, Jenny Singvall, Yi Xu, Sharon J Peacock, Viviana Valtulina, and Pietro Speziale. 2005. "Identification and Preliminary Characterization of Cell-Wall-Anchored Proteins of *Staphylococcus Epidermidis*." *Microbiology* 151 (2005): 1453–64.
- Burian, Marc, Christiane Wolz, and Christiane Goerke. 2010. "Regulatory Adaptation of *Staphylococcus Aureus* during Nasal Colonization of Humans." *PLoS ONE* 5 (4).
- Cassat, James E., Neal Hammer, J. Preston Campbell, Meredith A. Benson, Daniel S. Perrien, Lara N. Mrak, Mark S. Smeltzer, Victor J. Torres, and Eric P Skaar. 2014. "A Secreted Bacterial Proteasetailors the *Staphylococcus Aureus* Virulence Repertoire to Modulate Bone Remodeling during Osteomyelitis." *Cell Host Microbe* 13 (1): 1–23.

- Collins, L Vincent, Sascha A Kristian, Christopher Weidenmaier, Marion Faigle, Kok P M Van Kessel, and Jos A G Van Strijp. 2002. “*Staphylococcus Aureus* Strains Lacking D -Alanine Modifications of Teichoic Acids Are Highly Susceptible to Human Neutrophil Killing and Are Virulence Attenuated in Mice.” *JID*, no. July: 214–19.
- Corrigan, Rebecca M, Helen Miajlovic, and Timothy J Foster. 2009. “Surface Proteins That Promote Adherence of *Staphylococcus Aureus* to Human Desquamated Nasal Epithelial Cells.” *BMC Microbiology* 9 (1): 22.
- Costerton, J William, Philip S Stewart, and E. P Greenberg. 1999. “Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections.” *Science* 284 (5418): 1318–22.
- Eiff, Christof Von, Karsten Becker, Konstanze Machka, Holger Stammer, and Georg Peters. 2001. “Nasal Carriage as a Source of *Staphylococcus Aureus* Bacteremia.” *N Eng J Med* 344 (1): 11–16.
- Eriksen, N. H. Riewerrs, F. Espersen, V. Thamdrup Rosdahl, and K. Jensen. 1995. “Carriage of *Staphylococcus Aureus* among 104 Healthy Persons during a 19-Month Period.” *Epidemiology and Infection* 115: 51–60.
- Ernst, Christoph M, Petra Staubitz, Nagendra N Mishra, Soo-jin Yang, Gabriele Hornig, Arnold S Bayer, Dirk Kraus, and Andreas Peschel. 2009. “The Bacterial Defensin Resistance Protein MprF Consists of Separable Domains for Lipid Lysinylation and Antimicrobial Peptide Repulsion.” *PLoS Pathogens* 5 (11): 1–9.
- Foreman, Kimberly E., Ara A. Vaporciyan, Brian K. Bonish, Michael L. Jones, Kent J. Johnson, M. Michael Glovsky, Susan M. Eddy, and Peter A. Ward. 1994. “C5a-Induced Expression of P-Selectin in Endothelial Cells.” *Journal of Clinical Investigation* 94 (3): 1147–55.
- Fuchs, Tobias A, Ulrike Abed, Christian Goosmann, Robert Hurwitz, Ilka Schulze, Volker Wahn, Yvette Weinrauch, Volker Brinkmann, and Arturo Zychlinsky. 2007. “Novel Cell Death Program Leads to Neutrophil Extracellular Traps.” *Journal of Cell Biology* 176 (2): 231–41.
- Garzoni, Christian, Patrice Francois, Antoine Huyghe, Sabine Couzinet, Caroline Tapparel, Yvan Charbonnier, Adriana Renzoni, et al. 2007. “A Global View of *Staphylococcus Aureus* Whole Genome Expression upon Internalization in Human Epithelial Cells.” *BMC Genomics* 8: 1–14.
- Garzoni, Christian, and William L. Kelley. 2009. “*Staphylococcus Aureus*: New Evidence for Intracellular Persistence.” *Trends in Microbiology* 17 (2): 59–65.
- Geoghegan, Joan A., Dufrene, Yves F. 2018. “Mechanobiology: How Mechanical Forces

- Activate *Staphylococcus Aureus* Adhesion” 26 (2018): 645–48.
- Haas, Carla J C de, Karin Ellen Veldkamp, Andreas Peschel, Floor Weerkamp, Willem J B Van Wamel, Erik C J M Heezius, Miriam J J G Poppelier, Kok P M Van Kessel, and Jos A G Van Strijp. 2004. “Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus Aureus* , a Bacterial Antiinflammatory Agent.” *Journal of Experimental Medicine* 199 (5): 687–95.
- Haas, Pieter-jan, Carla J C De Haas, Miriam J J C Poppelier, Ruud M Scheek, Hao Fan, John A W Kruijtzter, Rob M J Liskamp, and Johan Kemmink. 2005. “The Structure of the C5a Receptor-Blocking Domain of Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus Aureus* Is Related to a Group of Immune Evasive Molecules.” *J Mol Biol*, 859–72.
- Herman-Bausier, Philippe, Cristina Labate, Aisling M. Towell, Sylvie Derclaye, Joan A. Geoghegan, and Yves F. Dufrêne. 2018. “*Staphylococcus Aureus* Clumping Factor A Is a Force-Sensitive Molecular Switch That Activates Bacterial Adhesion.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 201718104.
- Hongo, Isamu, Tadashi Baba, Kanenari Oishi, Yuh Morimoto, Teruyo Ito, and Keiichi Hiramatsu. 2009. “Phenol-Soluble Modulins Enhance the Human Neutrophil Lysis Mediated by Panton-Valentine Leukocidin.” *The Journal of Infectious Diseases* 200 (5):
- *Kiedrowski, Megan R, and Alexander R. Horswill. 2011. “New Approaches for Treating Staphylococcal Biofilm Infections.” *Ann. N.Y. Acad. Sc* 1241: 104–21.
- Kiedrowski, Megan R, Jeffrey S Kavanaugh, Cheryl L Malone, Joe M Mootz, Jovanka M Voyich, Mark S Smeltzer, Kenneth W Bayles, and Alexander R Horswill. 2011. “Nuclease Modulates Biofilm Formation in Community- Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*.” *PLoS ONE* 6 (11): 1–16.
- Kintarak, Sompid, Whawell, Simon A., Speight, Paul M., Packer, Samantha, Nair, Sean P. 2014 ”Internalization of *Staphylococcus Aureus* by Human Keratinocytes.” *Infection and Immunity* 72 (10)
- Kohler, Thomas, Christopher Weidenmaier, and Andreas Peschel. 2009. “Wall Teichoic Acid Protects *Staphylococcus Aureus* against Antimicrobial Fatty Acids from Human Skin.” *Journal of Bacteriology* 191 (13): 4482–84.
- Koop, Gerrit, Manouk Vriel, Daniel M L Storisteanu, Laurence S C Lok, Tom Monie, Glenn Van Wigcheren, Claire Rais, et al. 2017. “Identification of LukPQ , a Novel , Equid-Adapted Leukocidin of *Staphylococcus Aureus*.” *Scientific Reports*, no. August 2016: 1–
- Kretschmer, Dorothee, Anne Kathrin Gleske, Maren Rautenberg, Rong Wang, Martin Köberle,

- Erwin Bohn, Torsten Schöneberg, et al. 2010. “Human Formyl Peptide Receptor 2 Senses Highly Pathogenic *Staphylococcus Aureus*.” *Cell Host and Microbe* 7 (6): 463–73.
- Kubica, Malgorzata, Guzik, Krzysztof, Koziel, Joanna, Zarebski, Mirosław, Richter, Walter, Gajkowska, Barbara, Golda, Maciag-Gudowska, Agnieszka, Brix, Klaudia, Shaw, Les, Foster, Timothy, Potempa, Jan. 2008. “A Potential New Pathway for *Staphylococcus aureus* Dissemination: The Silent Survival of *S. aureus* Phagocytosed by Human Monocyte-Derived Macrophages.” *Plos ONE* (1): 1-16.
- Kurokawa, Kenji, Kazue Takahashi, and Bok Luel Lee. 2016. “The Staphylococcal Surface-Glycopolymer Wall Teichoic Acid (WTA) Is Crucial for Complement Activation and Immunological Defense against *Staphylococcus Aureus* Infection.” *Immunobiology* 221 (10)
- *Lampe, M A, A L Burlingame, J Whitney, M L Williams, B E Brown, E Roitman, and P. M. Elias. 1983. “Human Stratum Corneum Lipids: Characterization and Regional Variations.” *J Lipid Res.* 24: 120–30.
- Li, Min, Xin Du, Amer E Villaruz, Binh An Diep, Decheng Wang, and Yan Song. 2012. “MRSA Epidemic Linked to a Quickly Spreading Colonization and Virulence Determinant.” *Nat Med* 18 (5)
- Liles, W Conrad, Anni R Thomsen, D Shane O Mahony, and Seymour J Klebanoff. 2001. “Stimulation of Human Neutrophils and Monocytes by Staphylococcal Phenol-Soluble Modulin Abstract: Modulins Represent Microbial Products That Stimulate Cytokine Production in Host Cells . Dis . We Examined the Effects of PSM on Proinflammatory Monocytes in Vit.” *Journal of Leukocyte Biology* 70 (July): 96–102.
- Lina, Gerard, Florent Boutite, Anne Tristan, Michèle Bes, Jerome Etienne, and Francois Vandenesch. 2003. “Bacterial Competition for Human Nasal Cavity Colonization: Role of Staphylococcal Agr Alleles.” *Applied and Environmental Microbiology* 69 (1): 18–23.
- Liu, George Y., Anthony Essex, John T. Buchanan, Vivekanand Datta, Hal M. Hoffman, John F. Bastian, Joshua Fierer, and Victor Nizet. 2005. “*Staphylococcus Aureus* Golden Pigment Impairs Neutrophil Killing and Promotes Virulence through Its Antioxidant Activity.” *The Journal of Experimental Medicine* 202 (2): 209–15.
- Löffler, Bettina, Muzaffar Hussain, Matthias Grundmeier, Michaela Brück, Dirk Holzinger, Georg Varga, Johannes Roth, Barbara C. Kahl, Richard A. Proctor, and Georg Peters.

2010. “*Staphylococcus Aureus* Panton-Valentine Leukocidin Is a Very Potent Cytotoxic Factor for Human Neutrophils.” *PLoS Pathogens* 6 (1).
- Messaritakis, I., G. Samonis, D. Dimopoulou, S. Maraki, J. A. Papadakis, V. Daraki, M. Fragaki, C. Choulaki, A. M. Andrianaki, and D. P. Kofteridis. 2014. “*Staphylococcus Aureus* Nasal Carriage Might Be Associated with Vitamin D Receptor Polymorphisms in Type 2 Diabetes.” *Clinical Microbiology and Infection* 20 (9): 920–25.
- Mohamed, W, U Sommer, S Sethi, E Domann, U Thormann, K S Lips, T Chakraborty, et al. 2014. “Intracellular Proliferation of *S. Aureus* in Osteoblasts and Effect of Rifampicin and Gentamicin on *S. Aureus* Intracellular Proliferation and Survival.” *European Cells and Materials* 28 (0): 258–68.
- Mootz, Joe M, Cheryl L Malone, Lindsey N Shaw, and R Horswill. 2013. “Staphopains Modulate *Staphylococcus Aureus* Biofilm Integrity.” *Infection and Immunity* 81 (9):
- Mulcahy, Michelle E., Joan A. Geoghegan, Ian R. Monk, Kate M. O’Keeffe, Evelyn J. Walsh, Timothy J. Foster, and Rachel M. McLoughlin. 2012. “Nasal Colonisation by *Staphylococcus Aureus* Depends upon Clumping Factor B Binding to the Squamous Epithelial Cell Envelope Protein Loricrin.” *PLoS Pathogens* 8 (12).
- Mulcahy, Michelle E, and Rachel M Mcloughlin. 2016. “Host – Bacterial Crosstalk Determines *Staphylococcus Aureus* Nasal Colonization.” *Trends in Microbiology* 24 (11): 872–86.
- Nelson, Charlotte L, Kimberly Pelak, Mihai V Podgoreanu, Sun Hee Ahn, William K Scott, Andrew S Allen, Lindsay G Cowell, et al. 2014. “A Genome-Wide Association Study of Variants Associated with Acquisition of *Staphylococcus Aureus* Bacteremia in a Healthcare Setting.” *BMC Infectious Diseases* 14 (1): 1–8.
- Niemann, Silke, Christina Ehrhardt, Eva Medina, Kathrin Warnking, Lorena Tuchscher, Vanessa Heitmann, Stephan Ludwig, Georg Peters, and Bettina Löffler. 2012. “Combined Action of Influenza Virus and *Staphylococcus Aureus* Panton-Valentine Leukocidin Provokes Severe Lung Epithelium Damage.” *Journal of Infectious Diseases* 206 (7): 1138–48.
- Nurjadi, Dennis, Elena Herrmann, Isabel Hinderberger, and Philipp Zanger. 2013. “Impaired β -Defensin Expression in Human Skin Links DEFB1 Promoter Polymorphisms with Persistent *Staphylococcus Aureus* Nasal Carriage.” *The Journal of Infectious Diseases* 207 (4): 666–74.
- O’Brien, Mouis M., Evelyn J. Walsh, Ruth C. Massey, Sharon J. Peacock, and Timothy J. Foster. 2002. “*Staphylococcus Aureus* Clumping Factor B (ClfB) Promotes Adherence to Human Type I Cytokeratin 10: Implications for Nasal Colonization.” *Cellular*

Microbiology 4 (11): 759–70.

- O'Neill, Eoghan, Clarissa Pozzi, Patrick Houston, Hilary Humphreys, D. Ashley Robinson, Anthony Loughman, Timothy J. Foster, and James P. O'Gara. 2008. "A Novel *Staphylococcus Aureus* Biofilm Phenotype Mediated by the Fibronectin-Binding Proteins, FnBPA and FnBPB." *Journal of Bacteriology* 190 (11): 3835–50.
- Olivier, C. Aurélie, Sandrine Lemaire, Françoise Van Bambeke, M. Paul Tulkens, and Eric Oldfield. 2009. "Role of RsbU and Staphyloxanthin in Phagocytosis and Intracellular Growth of *Staphylococcus Aureus* in Human Macrophages and Endothelial Cells." *NIH Public Access* 86 (12): 3279–88.
- Palaniyar, Nades, Jeya Nadesalingam, and Kenneth B.M. Reid. 2002. "Pulmonary Innate Immune Proteins and Receptors That Interact with Gram-Positive Bacterial Ligands." *Immunobiology* 205 (4–5): 575–94.
- Peschel, Andreas, Michael Otto, Ralph W Jack, and Hubert Kalbacher. 1999. "Inactivation of the Dlt Operon in *Staphylococcus Aureus* Confers Sensitivity to Defensins , Protegrins , and Other Antimicrobial Peptides *." *The Journal of Biological Chemistry* 274 (13): 8405–10.
- Postma, Bent, Miriam J Poppelier, Joost C Van Galen, R Prossnitz, Jos A G Van Strijp, Carla J C De Haas, and Kok P M Van Kessel. 2004. "Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus Aureus* Binds Specifically to the C5a and Formylated Peptide Receptor." *The Journal of Immunology*, 6994–7001.
- Prat, C., P.-J. Haas, J. Bestebroer, C. J. C. de Haas, J. A. G. van Strijp, and K. P. M. van Kessel. 2009. "A Homolog of Formyl Peptide Receptor-Like 1 (FPRL1) Inhibitor from *Staphylococcus Aureus* (FPRL1 Inhibitory Protein) That Inhibits FPRL1 and FPR." *The Journal of Immunology* 183 (10): 6569–78.
- Rájová, J., R. Pantůček, P. Petráš, I. Varbanovová, I. Mašlaňová, and J. Beneš. 2016. "Necrotizing Pneumonia Due to Clonally Diverse *Staphylococcus Aureus* Strains Producing Panton-Valentine Leukocidin: The Czech Experience." *Epidemiology and Infection* 144 (3): 507–15.
- Sakai, Kent, Nobuhiro Koyama, Takashi Fukuda, Yukiko Mori, Hiroyasu Onaka, and Hiroshi Tomoda. 2012. "Search Method for Inhibitors of Staphyloxanthin Production by Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*." *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 35

(1): 48–53.

- Schröder, Andreas, Raphael Kland, Andreas Peschel, Christof Von Eiff, and Martin Aepfelbacher. 2006. “Live Cell Imaging of Phagosome Maturation in *Staphylococcus Aureus* Infected Human Endothelial Cells: Small Colony Variants Are Able to Survive in Lysosomes.” *Medical Microbiology and Immunology* 195 (4): 185–94.
- Siciliano, Salvatore J, Thomas E Rollins, Julie Demartinot, Zenon Konteatis, Lorraine Malkowitz, Gail Van Ripert, Steven Bondy, Hugh Rosent, and Martin S Springer. 1994. “Two-Site Binding of C5a by Its Receptor: An Alternative Binding Paradigm for G Protein-Coupled Receptors.” *Biochemistry* 91 (February): 1214–18.
- Soldo, Blazenka, Vladimir Lazarevic, and Dimitri Karamata. 2002. “*TagO* Is Involved in the Synthesis of All Anionic Cell-Wall Polymers in *Bacillus Subtilis* 168.” *Microbiology (Reading, England)* 148 (Pt 7): 2079–87.
- Spaan, Andrés N., Thomas Henry, Willemien J M Van Rooijen, Magali Perret, Cédric Badiou, Piet C. Aerts, Johan Kemmink, et al. 2013. “The Staphylococcal Toxin Panton-Valentine Leukocidin Targets Human C5a Receptors.” *Cell Host and Microbe* 13 (5): 584–94.
- Spaan, Andrés N, Ariën Schiepers, Carla J C De Haas, Davy D J J Van Hooijdonk, Cédric Badiou, François Vandenesch, Gérard Lina, et al. 2015. “Differential Interaction of the Staphylococcal Toxins Panton – Valentine Leukocidin and γ -Hemolysin CB with Human C5a Receptors.” *J Immunol* 195: 1034–43.
- Thurlow, Lance R, Mark L Hanke, Teresa Fritz, Amanda Angle, Amy Aldrich, H Williams, Ian L Engebretsen, Kenneth W Bayles, and Alexander R Horswill. 2012. “*Staphylococcus Aureus* Biofilms Prevent Macrophage Phagocytosis and Attenuate Inflammation in Vivo.” *J Immunol* 186 (11): 6585–96.
- Thwaites, Guy E, and Vanya Gant. 2011. “Are Bloodstream Leukocytes Trojan Horses for the Metastasis of *Staphylococcus Aureus*?” *Nature* 9 (3): 215–22.
- Tkadlec, Jan, Eva Vařeková, R. Pantůček, Jiří Doškař, Vladislava Růžicková, Tibor Botka, Libor Fila, and Oto Melter. 2015. “Characterization of *Staphylococcus Aureus* Strains Isolated from Czech Cystic Fibrosis Patients: High Rate of Ribosomal Mutation Conferring Resistance to MLS B Antibiotics as a Result of Long-Term.” *Microbial Drug Resistance* 21 (4): 416–23.
- Tong, Steven Y.C., Batu K. Sharma-Kuinkel, Joshua T. Thaden, Adeline R. Whitney, Soo Jin Yang, Nagendra N. Mishra, Thomas Rude, et al. 2013. “Virulence of Endemic Nonpigmented Northern Australian *Staphylococcus Aureus* Clone (Clonal Complex 75, S. Argenteus) Is Not Augmented by Staphyloxanthin.” *Journal of Infectious Diseases* 208

(3): 520–27.

- Tromp, Angelino T., Michiel Van Gent, Pauline Abrial, Amandine Martin, Joris P. Jansen, Carla J.C. De Haas, Kok P.M. Van Kessel, et al. 2018. “Human CD45 Is an F-Component-Specific Receptor for the Staphylococcal Toxin Panton-Valentine Leukocidin.” *Nature Microbiology* 3 (6): 708–17.
- Verkaik, Neliann J., Corné P. de Vogel, Hélène A. Boelens, Dorothee Grumann, Theo Hoogenboezem, Cornelis Vink, Herbert Hooijkaas, et al. 2009. “Anti-Staphylococcal Humoral Immune Response in Persistent Nasal Carriers and Noncarriers of *Staphylococcus Aureus*.” *Journal of Infectious Diseases* 199 (5): 625–32.
- Vitry, Pauline, Claire Valotteau, Cécile Feuillie, Simon Bernard, David Alsteens, Joan A Geoghegan, and F Dufrêne. 2017. “Crossm Interaction between Staphylococcus” 8 (6): 1–14.
- Wang, Rong, Kevin R. Braughton, Dorothee Kretschmer, Thanh Huy L. Bach, Shu Y. Queek, Min Li, Adam D. Kennedy, et al. 2007. “Identification of Novel Cytolytic Peptides as Key Virulence Determinants for Community-Associated MRSA.” *Nature Medicine* 13 (12): 1510–14.
- Weidenmaier, Christopher, John F. Kokai-Kun, Sascha A. Kristian, Tanya Chanturiya, Hubert Kalbacher, Matthias Gross, Graeme Nicholson, Birgid Neumeister, James J. Mond, and Andreas Peschel. 2004. “Role of Teichoic Acids in *Staphylococcus Aureus* Nasal Colonization, a Major Risk Factor in Nosocomial Infections.” *Nature Medicine* 10 (3): 243–45.
- Weidenmaier, Christopher, John F. Kokai-Kun, Emir Kulauzovic, Thomas Kohler, Günther Thumm, Hartmut Stoll, Friedrich Götz, and Andreas Peschel. 2008. “Differential Roles of Sortase-Anchored Surface Proteins and Wall Teichoic Acid in *Staphylococcus Aureus* Nasal Colonization.” *International Journal of Medical Microbiology* 298 (5–6): 505–13.
- Yoong, Pauline, and Victor J Torres. 2015. “Counter Inhibition between Leukotoxins Attenuates *Staphylococcus Aureus* Virulence.” *Nature Communications* 6: 1–10.

*sekundární zdroj