

Beata Sadowska^{1*}, Barbara Różalska¹

¹Zakład Biologii Zakażeń, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii,
Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237 Łódź

1. Wprowadzenie. 2. Interferencja gronkowców z mechanizmami odpornościowymi gospodarza. 3. Aktywność immunomodulacyjna gronkowców. 4. *S. aureus* jako wewnątrzkomórkowy patogen. 5. Podsumowanie

Staphylococci – what’s new about them?

Abstract: Several surface structures and secreted proteins of *Staphylococcus aureus* which take part in efficacious body colonization have been well characterized. Nevertheless, staphylococci are still very difficult to control and cause many types of both community and nosocomial infections, ranging from skin lesions to life-threatening invasive diseases. The exquisite staphylococcal adaptability to changing environmental conditions is the basis for the success of these bacteria as pathogens. Staphylococci can very quickly alter the phenotype using their gene expression regulatory systems. They can change the profile of produced virulence factors or mode of growth: bacteria from planktonic culture can rapidly adhere to various surfaces, aggregate and form very well organized, morphologically and functionally differentiated communities of microorganisms – biofilm. Staphylococcal biofilms show higher resistance to many bactericidal factors, including host innate immunity, and are responsible for usually chronic, recurrent infections, very often associated with the usage of medical biomaterials. *S. aureus* is also well adapted to intracellular survival, including immunocompetent cells i.e. professional phagocytes. Recently, it has been also confirmed that some of staphylococcal virulence factors can modulate immune response, both *in vitro* and *in vivo*, influencing host susceptibility to infection.

1. Introduction. 2. Staphylococcal interference with host immune response. 3. Immunomodulatory activity of staphylococci. 4. *S. aureus* as an intracellular pathogen. 5. Summary

Słowa kluczowe: czynniki wirulencji, gronkowce, immunomodulacja, układ odpornościowy

Key words: virulence factors, staphylococci, immunomodulation, immune system

1. Wprowadzenie

Drobnoustroje towarzyszące rodzajowi ludzkiemu od początków jego istnienia zdają się stale wyprzedzać nas „o krok”. Postępowi, który niewątpliwie został osiągnięty w eliminacji chorób zakaźnych, wtóruje pojawianie się nowych zagrożeń ze strony mikroorganizmów. Wystarczy wspomnieć zakażenia wirusem HIV, HCV, atypowymi wirusami grypy, wielolekoopornymi prątkami gruźlicy, zakażenia towarzyszące stosowaniu w praktyce medycznej biomateriałów i wiele innych. Nawet drobnoustroje, które wydają się dość dobrze scharakteryzowane, potrafią zaskakiwać nieznanymi właściwościami. Z całą pewnością można zaliczyć do tej grupy gronkowce, na czele ze *Staphylococcus aureus* – najistotniejszym z tego rodzaju gatunkiem chorobotwórczym dla człowieka i zwierząt.

Zestaw posiadanych przez *S. aureus* czynników wirulencji jest niezwykle bogaty. Obejmuje on zarówno integralne struktury komórkowe, jak również szeroką grupę czynników wydzielanych do środowiska. Wśród pierwszych warto wymienić charakterystyczne dla drobnoustrojów Gram-dodatnich: peptydoglikan (PG), kwasy teichojoyowe (TA, teichoic acids) i lipoteichojo-

we (LTA, lipoteichoic acids), a także struktury typowe dla *S. aureus*, takie jak: białko A (SpA, staphylococcal protein A), czynnik skupiania (Clf, clumping factor), białko Bap (biofilm-associated protein), białka Dlt czy występujące u wszystkich gronkowców białka z grupy MSCRAMMs (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) wiążące ECM (extracellular matrix proteins). Czynniki wirulencji gronkowców wydzielane z ich komórek obejmują między innymi: adhezynę gronkowcową PIA/PNAG (polysaccharide intercellular adhesin/polymeric N-acetyl-glucosamine), białko adhezyjne Eap, białko wiążące fibrynogen Efb (extracellular fibrinogen binding protein), inhibitor komplementu SCIN (staphylococcal complement inhibitor), białko CHIPS (chemotaxis inhibitory protein of staphylococci), koagulazę, stafylokinazę (SAK) i wiele innych enzymów. Wśród czynników zewnątrzkomórkowych na szczególne wyróżnienie zasługują toksyny, w tym: hemolizyny (α , β , γ , δ), leukocydyna Panton-Valentine (PVL), toksyny epidermolityczne, enterotoksyny, toksyna zespołu wstrząsu toksycznego (TSST-1) czy białka przypominające superantygenu (SSLs, staphylococcal superantigen-like protein) [4, 7, 10, 13, 15, 19, 24, 28, 35, 37, 40].

* Autor korespondencyjny: Zakład Biologii Zakażeń, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki; Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: bsad@biol.uni.lodz.pl

2. Interferencja gronkowców z mechanizmami odpornościowymi gospodarza

Wydaje się, iż wszystkie czynniki wirulencji gronkowców zostały już bardzo dobrze opisane, zarówno pod względem strukturalnym, jak i funkcjonalnym. Tymczasem wprowadzenie nowych technik badawczych oraz szersze spojrzenie na aspekty funkcjonowania i kooperacji gronkowców (np. w złożonej strukturze biofilmu, także wielogatunkowego), rzuca na wiele z tych elementów patogenności zupełnie nowe światło.

Przykładem znanych czynników wirulencji *S. aureus* o niedawno ujawnionych nowych właściwościach może być powierzchniowe białko A. Udział SpA w hamowaniu fagocytozy i blokowaniu klasycznej drogi aktywacji dopełniacza, będący efektem nieswoistego wiązania immunoglobulin klasy IgG i IgM przez ich fragment Fc, jest znany od lat. Najnowsze badania dodatkowo wskazują na SpA, jako jeden z ważniejszych czynników promujących agregację gronkowców i tworzenie przez te drobnoustroje biofilmu. Wykazano, iż nawet sama obecność SpA w podłożu wzrostu drobnoustrojów nasila interakcje międzykomórkowe. Zaś delecja genu *spa* ogranicza zdolność tak powstałych mutantów *S. aureus* do zasiedlania biomateriałów medycznych *in vivo* [28]. Ponadto zwraca się też uwagę na inną aktywność biologiczną SpA. Wiązanie tego białka z receptorem dla czynnika martwicy nowotworów (TNF, tumor necrosis factor) – TNFRI na komórkach eukariotycznych może prowadzić do wzbudzenia reakcji zapalnej oraz do aktywacji szlaków apoptozy [13, 28]. Tym samym ranga SpA, wśród czynników wirulencji istotnych w procesie rozwoju infekcji z udziałem gronkowców, dodatkowo wzrosła.

Niedoceniana może być także rola proteaz, jaką enzymy te odgrywają w rozwoju zakażeń z udziałem różnych mikroorganizmów, włączając w to gronkowce. Zwykle wskazuje się na znaczenie proteaz w rozprzestrzenianiu drobnoustrojów w tkankach, u podstaw którego leży ich zdolność do rozkładu białek ECM. Tymczasem proteazy należy również zaliczyć do czynników skutecznie interferujących z mechanizmami obronnymi gospodarza. Przeprowadzają one między innymi degradację defensyn i immunoglobulin [34]. Ostatnio zaś *S m a g u r* i wsp. [35] wykazali, iż proteaza SspB – jedna z czterech (obok SspA, ScpA i aureolizyny) najlepiej poznanych proteaz *S. aureus*, jest odpowiedzialna za degradację receptora FcγRIII i cząstki adhezyjnej CD11b na komórkach eukariotycznych. Aktywność tego enzymu w ustroju gospodarza utrudnia więc zjawisko chemotaksji i diapedozy leukocytów. Należy również wspomnieć o udziale proteaz drobnoustrojów w uwalnianiu ich z zewnątrzkomórkowej „sieci pułapkowej” tworzonej głównie przez granulocyty obojętnochłonne – NETs (neuro-

phil extracellular traps). Do powstawania NETs dochodzi prawdopodobnie po wyczerpaniu wszystkich możliwości wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów, kiedy aktywowane komórki wydzielają do otoczenia chromatynę i liczne peptydy bójcze (np. katepsynę G, mieloperoksydazę, elastazę, laktoferynę, żelatynazę). Tak utworzona sieć w sposób fizyczny zatrzymuje drobnoustroje w miejscu równoczesnego nagromadzenia czynników działających przeciwdrobnoustrojowo [3, 30].

Tak naprawdę jednak sukces *S. aureus* jako patogenu wynika nie tyle z aktywności biologicznej pojedynczych czynników wirulencji tego drobnoustroju, ale z umiejętności równoczesnego wykorzystania wielu z nich oraz szybkiego dostosowania ich ekspresji do konkretnie zaistniałej sytuacji *in vivo*. Synergistyczne działanie różnych wyznaczników patogenności daje gronkowcom możliwość interferencji z aktywnością układu odpornościowego gospodarza praktycznie na każdym etapie rozwoju odpowiedzi przeciwdrobnoustrojowej. Zaś geny je kodujące zostały w toku ewolucji zgrupowane w większe jednostki organizacyjne genomu zwane operonami i podporządkowane systemom regulatorowym ekspresji genów (dwa najważniejsze z nich u gronkowców to *agr* – accessory gene regulator i *sarA* – staphylococcal accessory regulator A) tak, by umożliwić ich równoczesną ekspresję czy represję [6, 41].

Interferencja gronkowców widoczna jest już na pierwszym etapie rozwoju reakcji odpornościowej w organizmie gospodarza – wykazują one zdolność hamowania migracji komórek fagocytarnych do miejsca infekcji. Zjawisko diapedozy i chemotaksji leukocytów determinują swoiste receptory znajdujące się na ich powierzchni i na powierzchni innych komórek, np. śródbłonna naczyń krwionośnych. Opuszczanie krwioobiegu przez fagocyty zachodzi dzięki swoistym interakcjom typu receptor-ligand warunkowanym przez obecność na komórkach immunokompetentnych receptorów dla selektyn: PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1) i ESL-1 (E-selectin ligand-1) oraz cząsteczek integryn: Mac-1, LFA-1 i VLA-4, które łączą się (odpowiednio) z selektynami P i E oraz receptorami: ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) i VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) na komórkach śródbłonna [9]. W badaniach nad patogennością gronkowców stwierdzono natomiast, iż wytwarzany przez nie polipeptyd SSL-5 wykazuje zdolność łączenia się z receptorami dla P-selektyn (PSGL-1), zaś białko Eap blokuje receptor ICAM-1 [4, 13, 18]. Tym samym oba białka produkowane przez *S. aureus* interferują z procesami przylegania fagocytów do komórek śródbłonna naczyń, toczenia się po nich i przechodzenia (diapedozy) przez ściany naczyń. Dalszy ukierunkowany ruch leukocytów w tkankach warunkują między inny-

mi czynniki chemotaktyczne powstające w organizmie gospodarza, jak uwalniane w trakcie aktywacji dopełniacza fragmenty C5a i C3a czy chemokiny (IL-8, MIP, MCP), TGF- β , leukotrien LTB₄, defensyny, czynnik aktywujący płytki (PAF) i inne. Wśród chemoatraktantów wymienia się również czynniki wydzielane przez same drobnoustroje, w tym głównie struktury zaliczane do PAMPs (patogen associated molecular patterns), jak formylowane peptydy (fMLP) [11, 32]. Odpowiedź fagocytów na czynniki chemotaktyczne następuje przy udziale swoistych dla nich receptorów na powierzchni tych komórek. Tymczasem wykazano, iż około 60% szczepów *S. aureus* produkuje białko CHIPS, które wiąże się z receptorami dla fragmentu C5a dopełniacza (C5aR) oraz z receptorami dla formylowanych peptydów (FPR) [8, 11, 32].

Po dotarciu w okolice wrót zakażenia lub innego miejsca lokalizacji drobnoustrojów patogennych, w leukocytach następuje aktywacja procesu fagocytozy i wewnątrzkomórkowego zabijania czynników zakaźnych. Gronkowce wykształciły liczne mechanizmy przeciwdziałania także tej aktywności komórek gospodarza. Do mechanizmów utrudniających fagocytozę, w tym także opsonofagocytozę (zależną od obecności opsonin, np. przeciwciał, składników komplementu) zalicza się:

- obecność na powierzchni gronkowców SpA, które jak już wspomniano nieswoiście wiąże fragment Fc przeciwciał i czynnik von Willebranda, ingeruje w pierwsze etapy klasycznej drogi aktywacji dopełniacza i uczestniczy w agregacji gronkowców;
- ekspresję białek wiążących fibrynogen: Clf i wewnątrzkomórkowego białka Efb, dodatkowo posiadającego zdolność wiązania składnika C3 dopełniacza i tym samym blokowania jego aktywacji na powierzchni gronkowców;
- produkcję białka SCIN stabilizującego kompleksy konwertazy C3 w trakcie aktywacji komplementu i tym samym powodującego osłabienie ich aktywności enzymatycznej;
- wydzielanie polipeptydu SSL-7 wiążącego i blokującego składnik C5 dopełniacza;
- produkcję SAK, która jako aktywator plazminogenu pośrednio uczestniczy między innymi w enzymatycznej degradacji przeciwciał i składników komplementu [2, 4, 6, 13, 28].

Ingerencja *S. aureus* w proces wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów obejmuje zarówno mechanizmy tlenowe, związane z produkcją i przeciwdrobnoustrojowym działaniem reaktywnych form tlenu (np. anionu nadadtlenkowego, nadtlenu wodoru, rodników hydroksylowych, tlenu singletowego), jak i mechanizmy nie związane z tlenem – wynikające z bójczej aktywności związków wytwarzanych i depozytowanych w ziarnistościach leukocytów (np. defensyn,

katelicydyn, białka BPI, lizozymu, laktoferyny, elastazy, katepsyny G, proteinazy 3). Istotną rolę odgrywają tu produkowane przez gronkowce enzymy:

- katalaza przeprowadza reakcję rozkładu H₂O₂;
- dysmutaza ponadadtlenkowa inaktywuje anion nadadtlenkowy;
- reduktazy siarczanowe metioniny zapobiegają utlenianiu tego aminokwasu przez rodniki tlenowe;
- aureolizyna uczestniczy w uwalnianiu gronkowców z ziarnistości fagosomalnych i ich przechodzeniu do cytoplazmy [36].

Funkcję przeciwutleniacza pełni też produkowany przez *S. aureus* pomarańczowy barwnik karotenoidowy – stafyloksantyna [5, 31]. Ponadto liczne produkty gronkowców wykazują aktywność proteolityczną w stosunku do produkowanych przez komórki gospodarza peptydów bójczych. Należy tu ponownie przywołać stafylokinazę, która po utworzeniu kompleksów z α -defensynami blokuje ich aktywność przeciwdrobnoustrojową czy aureolizynę wykazującą zdolność degradacji katelicydyn [2, 4, 33]. *S. aureus* posiadają też zdolność częściowej neutralizacji ujemnego ładunku powierzchni ich komórek przez chemiczną modyfikację składników ściany komórkowej (udział białek Dlt i MprF), co obniża wrażliwość tych drobnoustrojów na atak eukariotycznych peptydów kationowych [4, 13, 15]. Opisane wyżej właściwości pozwalają gronkowcom skutecznie unikać działania mechanizmów obronnych ustroju gospodarza.

3. Aktywność immunomodulacyjna gronkowców

Ostatnio szczególną uwagę zwraca się na aktywność immunomodulacyjną składników/metabolitów uwalnianych/wydzielanych przez gronkowce, ujawnianą zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* w stosunku do komórek eukariotycznych. Do jednych z bardziej aktywnych biologicznie substancji zalicza się takie składniki ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich, jak peptydoglikan oraz kwasy tejchojowe i lipotejchojowe. Pod względem oddziaływania na organizmy wyższe PG uznawany jest nawet za odpowiednik LPS bakterii Gram-ujemnych. Zarówno PG, jak i TA/LTA należą do składników PAMPs rozpoznawanych przez receptory TLR (Toll-like receptors) na komórkach gospodarza, czego efektem jest ich działanie chemotaktyczne w stosunku do leukocytów, stymulacja monocytów i makrofagów do wydzielania cytokin prozapalnych (w tym pirogennych, jak IL-1) i rodników tlenowych oraz aktywacja dopełniacza [20, 25, 37]. Szczególną aktywnością biologiczną charakteryzują się też toksyny gronkowcowe. Zwłaszcza hemolizyna α (α -toksyna), która oprócz klasycznej aktywności hemolitycznej wykazuje też właściwości leukotoksyczne (głównie

w stosunku do linii komórek monocytarno-makrofagowych), dermonekrotyczne, kardiotoksyczne, letalne, prozapalne i proapoptyczne [10, 23, 27]. Egzotoksyny gronkowcowe tworzące pory w błonach komórkowych należą do czynników zaangażowanych w procesy śmierci komórkowej. Wymienia się wśród nich: opisaną wyżej a-toksynę, leukocydynę Panton-Valentine (PVL) oraz toksynę zespołu wstrząsu toksycznego (TSST-1). Ich obecność w niewielkich stężeniach prowadzi do włączania najczęściej wewnętrznego (tzw. mitochondrialnego) szlaku apoptozy, podczas gdy wyższe stężenia tych toksyn zwykle powodują nekrozę komórek. Aktywność proapoptyczną i pronekrotyczną *S. aureus* wykazuje w stosunku do wielu typów komórek eukariotycznych, obejmujących zarówno komórki nabłonkowe, śródbłonkowe, jak i wchodzące w skład układu odpornościowego: limfocyty, monocyty, makrofagi czy neutrofile [17, 24, 35, 38]. Ujawnienie się tego typu aktywności immunomodulacyjnej drobnoustrojów *in vivo* może poważnie zakłócić prawidłowy przebieg procesu ich eliminacji i promować rozwój pełnoobjawowego zakażenia.

Uwalnianie/wydzielanie wielu składników/produktów drobnoustrojów (w tym gronkowców) do środowiska wzrostu zachodzi w sposób naturalny, często zamierzony przez same mikroorganizmy (związany z określoną fazą ich cyklu życiowego lub warunkami aktualnie panującymi w mikroniszy). Może również dochodzić do niego spontanicznie, w efekcie oddziaływania na komórki bakterii dodatkowych czynników zewnętrznych. Oprócz fizycznych czy chemicznych czynników pojawiających się w ekosystemach środowiskowych (np. siły mechaniczne, promieniowanie UV, promieniowanie jonizujące, chemikalia) zaliczyć można do nich także mechanizmy układu odpornościowego gospodarza, czy stosowane biocydy pozostające w stężeniach nieterapeutycznych (subinhibicyjnych). To ostatnie jest tym bardziej niepokojące, iż w trakcie prowadzenia antybiotykoterapii *in vivo*, podprogowe stężenia chemioterapeutyków zwykle najdłużej utrzymują się w tkankach, zwłaszcza tych trudno dostępnych. I tak, stwierdzono między innymi nasilone uwalnianie PG, LTA oraz a-toksyny u gronkowców w obecności antybiotyków b-laktamowych [22, 25, 39]. Istnieje więc wysokie prawdopodobieństwo zachodzenia, towarzyszącego antybiotykoterapii, przypadkowego uwalniania w ustroju gospodarza dużych ilości związków pochodzenia prokariotycznego, posiadających właściwości immunomodulacyjne. Warto też zauważyć, iż mogą one pochodzić nie tylko z komórek mikroorganizmów patogennych, ale także z drobnoustrojów wchodzących w skład mikroflory naturalnej pacjenta. Wymusza to konieczność wprowadzenia jeszcze bardziej ścisłej kontroli dozowania antybiotyków, obejmującej nie tylko ustalenie terapii celowa-

nej, ale także odpowiednich jej dawek, po uwzględnieniu parametrów farmakodynamicznych i farmakokinetycznych danego biocydu.

4. *S. aureus* jako wewnątrzkomórkowy patogen

Rozpatrując do niedawna nieznaną właściwość gronkowców nie sposób pominąć ich zdolności do przetrwania we wnętrzu komórek eukariotycznych. Drobnoustroje te nie są zaliczane do klasycznych wewnątrzkomórkowych patogenów (jak np. *Chlamydia* spp., *Legionella* spp. czy *Rickettsia* spp.), ale stale rośnie liczba doniesień wykazujących taką właśnie lokalizację *S. aureus* w organizmie gospodarza. Udowodniono zjawisko przeżywania gronkowców między innymi w komórkach nabłonkowych, śródbłonkowych, keratynocytach, fibroblastach, enterocytach, osteoblastach, a nawet w profesjonalnych fagocytach [1, 16, 21, 29]. W internalizację gronkowców z komórkami zaangażowane są mostki fibronektynowe tworzące się między powierzchniowymi białkami *S. aureus* wiążącymi fibronektynę a integrynami $\alpha_5\beta_1$ na komórkach. Zachodzi ona wówczas z wykorzystaniem tzw. mechanizmu zamka błyskawicznego i utworzeniem endosomu. W przypadku profesjonalnych fagocytów wiązanie gronkowców odbywa się przy udziale powierzchniowych receptorów tych komórek, np. receptorów dla fragmentów Fc immunoglobulin – FcR, dla składników dopełniacza – CR, receptorów rozpoznających wzorce molekularne patogenów – PRR i zwykle prowadzi do utworzenia klasycznego pseudopodium, a następnie fagosomu [12, 16, 21, 35]. Dalszy rozwój zdarzeń nadal pozostaje przedmiotem badań naukowych, choć w oparciu o dokonane obserwacje mikroskopowe można pokusić się o podanie kilku prawdopodobnych scenariuszy zachowania się gronkowców w komórkach. Drobnoustroje te mogą więc pozostawać w wakuolach endosomalnych lub uwalniać się do cytoplazmy komórek i tam namnażać, prowadząc ostatecznie do lizy komórek eukariotycznych. Rozpatruje się też możliwość przechodzenia *S. aureus* pozostających w cytoplazmie w mniej aktywne metabolicznie i dzięki temu słabiej wirulentne formy zwane SCV (small colony variants). Jednym z wykorzystywanych przez gronkowce sposobów przeżywania w komórkach, także w profesjonalnych fagocytach, wydaje się być autofagia i pozostawanie w utworzonych, otoczonych wieloma membranami autofagosomach lub we wnętrzu dużych wakuoli fagocytarnych – tzw. makropinosomach, które nie wykazują zdolności fuzji z lizosomami [1, 14, 16, 21]. Możliwe, iż gronkowce wykorzystują wszystkie z przedstawionych hipotetycznych scenariuszy w zależności od aktualnej sytuacji i/lub typu komórki eukariotycznej. Z całą pewnością można jednak powiedzieć,

iż wewnątrzkomórkowe przeżywanie gronkowców to dobra strategia funkcjonowania tych patogenów w ustroju gospodarza, zapewniająca im przede wszystkim ochronę przed działaniem jego humoralnych i komórkowych mechanizmów odpornościowych. Co więcej, często zachodząca *in vivo* wewnątrzkomórkowa lokalizacja tych bakterii oraz fakt łatwego tworzenia biofilmu przez gronkowce implikuje określone problemy diagnostyczne.

5. Podsumowanie

Choć gronkowce złoście umieszcza się na liście jednych z najlepiej poznanych drobnoustrojów, to wydaje się że jeszcze nie raz mogą zaskoczyć swoimi nowymi lub dotąd nieodkrytymi właściwościami. Wynika to z ich niezwykłych zdolności przystosowawczych do zmieniających się warunków otoczenia. Są to przecież drobnoustroje zamieszkujące zarówno środowiska abiotyczne, jak i bytujące w organizmach wyższych, włączając w to wnętrza komórek eukariotycznych. Mogą pozostawać w formach planktonowych lub tworzą złożone, zarówno pod względem budowy, jak i fizjologii, struktury biofilmu. Posiadają i wykorzystują wyjątkowo szeroki zestaw różnorodnych czynników wirulencji, obejmujący zarówno integralne składniki komórkowe, jak i czynniki uwalniane do otoczenia. Są zdolne do immunomodulacji odpowiedzi odpornościowej ustroju gospodarza i skutecznie interferując z wszystkimi jej mechanizmami mogą pretendować do miana patogenu doskonałego.

Piśmiennictwo

1. Bayles K.W., Wesson C.A., Liou L.E., Fox L.K., Bohach G.A., Trumble W.R.: Intracellular *Staphylococcus aureus* escapes the endosome and induces apoptosis in epithelial cells. *Infect. Immun.* **66**, 336–342 (1998)
2. Bokarewa M.I., Jin T., Tarkowski A.: *Staphylococcus aureus*: staphylokinase. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **38**, 504–509 (2006)
3. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A.: Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, **303**, 1532–1534 (2004)
4. Chavakis T., Preissner K.T., Herrmann M.: The anti-inflammatory activities of *Staphylococcus aureus*. *Trends Immunol.* **28**, 408–418 (2007)
5. Clauditz A., Resch A., Wieland K.-P., Peschel A., Götz F.: Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. *Infect. Immun.* **74**, 4950–4953 (2006)
6. Colque-Navarro P., Palma M., Söderquist B., Flock J.-I., Möllby R.: Antibody responses in patients with staphylococcal septicemia against two *Staphylococcus aureus* fibrinogen binding proteins: clumping factor and an extracellular fibrinogen binding protein. *Clin. Diagn. Labor. Immunol.* **7**, 14–20 (2000)
7. Cucarella C., Tormo M.A., Knecht E., Amorena B., Lasa I., Foster T.J., Penades J.R.: Expression of the biofilm-associated protein interferes with host protein receptors of *Staphylococcus aureus* and alters the infective process. *Infect. Immun.* **70**, 3180–3186 (2002)
8. De Haas C.J.C., Veldkamp K.E., Peschel A., Weerkamp F., Van Wamel W.J.B., Heezius E.C.J.M., Poppelier M.J.J.G., Van Kassel K.P.M., Van Strip J.A.G.: Chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus*, a bacterial antiinflammatory agent. *J. Exp. Med.* **199**, 687–695 (2004)
9. Delves P.J., Martin S.J., Burton D.R., Roitt I.M.: Roitt's essential immunology. Blackwell Publ., 2006, Wyd. XI
10. Dinges M.M., Orwin P.M., Schlievert P.M.: Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* **13**, 16–34 (2000)
11. Dürr M.C., Kristian S.A., Otto M., Matteoli G., Margolis P.S., Trias J., van Kessel K.P., van Strijp J.A., Bohn E., Landmann R., Peschel A.: Neutrophil chemotaxis by pathogen-associated molecular patterns – formylated peptides are crucial but not the sole neutrophil attractants produced by *Staphylococcus aureus*. *Cell. Microbiol.* **8**, 207–217 (2006)
12. Ernst R.K., Guina T., Miller S.I.: How intracellular bacteria survive: surface modifications that promote resistance to host innate immune responses. *J. Infect. Dis.* **179**, S326–S330 (1999)
13. Foster T.J.: Immune evasion by staphylococci. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 948–958 (2005)
14. Garzoni C., Kelley W.L.: *Staphylococcus aureus*: new evidence for intracellular persistence. *Trends Microbiol.* **17**, 59–65 (2008)
15. Götz F.: *Staphylococcus* and biofilms. *Mol. Microbiol.* **43**, 1367–1378 (2002)
16. Gresham H.D., Lowrance J.H., Caver T.E., Wilson B.S., Cheung A.L., Lindberg F.P.: Survival of *Staphylococcus aureus* inside neutrophils contributes to infection. *J. Immunol.* **164**, 3713–3722 (2000)
17. Haslinger-Löffler B., Kahl B.C., Grundmeier M., Strangfeld K., Wagner B., Fischer U., Cheung A.L., Peters G., Schultze-Osthoff K., Sinha B.: Multiple virulence factors are required for *Staphylococcus aureus*-induced apoptosis in endothelial cells. *Cell. Microbiol.* **7**, 1087–1097 (2005)
18. Harraghy N., Hussain M., Haggag A., Chavakis T., Sinha B., Herrmann M., Flock J.-I.: The adhesive and immunomodulating properties of multifunctional *Staphylococcus aureus* protein Eap. *Microbiology*, **149**, 2701–2707 (2003)
19. Hussain M., von Eiff C., Sinha B., Joost I., Herrmann M., Peters G., Becker K.: The *eap* gene as a novel target for specific identification of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 470–476 (2008)
20. Jones K.J., Perris A.D., Vernallis A.B., Worthington T., Lambert P.L., Elliott T.S.J.: Induction of inflammatory cytokines and nitric oxide in J774.2 cells and murine macrophages by lipoteichoic acid and related cell wall antigens from *Staphylococcus epidermidis*. *J. Med. Microbiol.* **54**, 315–321 (2005)
21. Kubica M., Guzik K., Kozieł J., Zarebski M., Richter W., Gajkowska B., Golda A., Maciag-Gudowska A., Brix K., Shaw L., Foster T., Potempa J.: A potential new pathway for *Staphylococcus aureus* dissemination: the silent survival of *S. aureus* phagocytosed by human monocyte-derived macrophages. *PLOS ONE*, **3**, e1409 (2008)
22. Kuroda H., Kuroda M., Cui L., Hiramatsu K.: Subinhibitory concentrations of β -lactam induce haemolytic activity in *Staphylococcus aureus* through the SaeRS two-component system. *FEMS Microbiol. Lett.* **268**, 98–105 (2006)

23. Liang X, Ji Y.: Involvement of $\alpha 5\beta 1$ - integrin and TNF- α in *Staphylococcus aureus* α -toxin- induced death of epithelial cells. *Cell. Microbiol.* **9**, 1809–1821 (2007)
24. Lotz S., Aga E., Wilde I., van Zandbergen G., Hartung T., Solbach W., Laskay T.: Highly purified lipoteichoic acid activates neutrophil granulocytes and delays their spontaneous apoptosis via CD14 and TLR2. *J. Leukoc. Biol.* **75**, 467–477 (2004)
25. Lotz S., Starke A., Ziemann C., Morath S., Hartung T., Solbach W., Laskay T.: β -lactam antibiotic-induced release of lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **5**, 15 (2006)
26. Luong T.T., Newell S.W., Lee C.Y.: *mgr*, a novel global regulator in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **185**, 3703–3710 (2003)
27. Menzies B.E., Kourteva I.: *Staphylococcus aureus* alpha-toxin induces apoptosis in endothelial cells. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **29**, 39–45 (2000)
28. Merino N., Toledo-Arana A., Vergara-Irigaray M., Valle J., Solano C., Calvo E., Lopez J.A., Foster T.J., Penadés J.R., Lasa I.: Protein A-mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **191**, 832–843 (2009)
29. Moisan H., Brouillette E., Jacob C.L., Langlois-Begin P., Michaud S., Malouin F.: Transcription of virulence factors in *Staphylococcus aureus* small-colony variants isolated from cystic fibrosis patients is influenced by SigB. *J. Bacteriol.* **188**, 64–76 (2006)
30. Oehmcke S., Mörgelin M., Herwald H.: Activation of the human contact system on neutrophil extracellular traps. *J. Innate Immun.* **1**, 225–230 (2009)
31. Pelz A., Wieland K.-P., Putzbach K., Hentschel P., Albert K., Götz F.: Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.* **280**, 32493–32498 (2005)
32. Postma B., Poppelier M.J., van Galen J.C., Prossnitz E.R., van Strip J.A.G., de Haas C.J.C., van Kassel K.P.M.: Chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* binds specifically to the C5a and formylated peptide receptor. *J. Immunol.* **172**, 6994–7001 (2004)
33. Potempa J., Pike R.N.: Corruption of innate immunity by bacterial proteases. *J. Innate Immun.* **1**, 70–87 (2009)
34. Shaw L., Golonka E., Potempa E., Foster S.J.: The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, **150**, 217–228 (2004)
35. Smagur J., Guzik K., Magiera L., Bzowska M., Gruca M., Thogersen I.B., Enghild J.J., Potempa J.: A new pathway of staphylococcal pathogenesis: apoptosis-like death induced by staphopain B in human neutrophils and monocytes. *J. Innate Immun.* **1**, 98–108 (2009)
36. Urban C.F., Lourido S., Zychlinsky A.: How do microbes evade neutrophil killing? *Cell. Microbiol.* **8**, 1687–1696 (2006)
37. Wang J.E., Jorgensen P.F., Almlöf M., Thiemermann C., Foster S.J., Aasen A.O., Solberg R.: Peptidoglycan and lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* induce tumor necrosis factor alpha and interleukin-6, and IL-10 production in both T cells and monocytes in a human whole blood model. *Infect. Immun.* **68**, 3965–3970 (2000)
38. Wesson C.A., Geringer J., Liou L.E., Bayles K.W., Bohach G.A., Trumble W.R.: Apoptosis induced by *Staphylococcus aureus* in epithelial cells utilizes a mechanisms involving caspases 8 and 3. *Infect. Immun.* **68**, 2998–3001 (2000)
39. Van Langevelde P., Van Dissel J.T., Ravensbergen E., Appelmelk B.J., Schrijver I.A., Groeneveld P.H.P.: Antibiotic-induced release of lipoteichoic acid and peptidoglycan from *Staphylococcus aureus*: quantitative measurements and biological reactivities. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**, 3073–3078 (1998)
40. Van Wamel W.J.B., Rooijackers S.H.M., Ruyken M., van Kassel K.P.M., van Srijp J.A.G.: The innate immune modulators staphylococcal complement inhibitor and chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* are located on β -hemolysin-converting bacteriophages. *J. Bacteriol.* **188**, 1310–1315 (2006)
41. Yarwood J.M., Schlievert P.M.: Quorum sensing in *Staphylococcus* infections. *J. Clin. Invest.* **112**, 1620–1625 (2003)