



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

"TOXINAS DE *Staphylococcus aureus*"

T E S I N A

Que para obtener el título de

B I Ó L O G A

Presenta

LILIANA ÁLVAREZ TULE

Directora

M. en C. ALINA URIBE GARCÍA



Los Reyes Iztacala, Tlanepantla, Estado de México

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

A mi pequeña familia: Valentina, esto es para ti hija, no abandones tus sueños por más lejanos e imposibles que se vean, nunca dejes de luchar, siempre habrá una forma de llegar a ellos. Luis, gracias por estar conmigo y apoyarme en cada momento (ahora, solo faltas tú).
¡LOS AMO!

A mis papás, por su apoyo incondicional en esta aventura llamada vida.

A Renatta, que a pesar de las diferencias siempre estás para apoyarme.

A mi tía Aure, infinitas gracias por todo lo que haz hecho por nosotros, especialmente por mí.

A mis amiguetos, sin ustedes no se qué hubiera hecho. Gracias por ser parte de mi vida. ¡Los extraño tanto!

Un agradecimiento especial a la M.C. Alina y al Dr. Sergio que aparecieron cuando pensé que ya había perdido esta batalla. No tengo como pagarles todo el apoyo brindado estos meses.

*"...La vida es una unión simbiótica y cooperativa
que permite triunfar a los que se asocian..."*
Lynn Margulis

Para Tonatiuh, mi ángel ♥...

Índice

1. RESUMEN	<i>pág.6</i>
2. INTRODUCCIÓN	<i>pág. 7</i>
3. ANTECEDENTES	<i>pág. 9</i>
4. TOXINAS	<i>pág. 10</i>
4.1 HEMOLISINAS	<i>pág. 10</i>
4.2 LEUCOTOXINAS	<i>pág. 17</i>
4.3 ENTEROTOXINAS	<i>pág. 18</i>
4.4 TOXINA EXFOLIATIVA	<i>pág. 20</i>
5. CONCLUSIONES	<i>pág. 21</i>
6. REFERENCIAS	<i>pág. 22</i>

1. RESUMEN

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva anaerobia facultativa cuya morfología microscópica es de cocos de 0.5-1 micrómetro de diámetro agrupados en forma de racimo de uva, no es móvil y no forma esporas. Fue descubierta en 1880 por Sir Alexander Ogston (Smith, 1982). Forma parte de la flora normal de la piel, de la cavidad oral, de las fosas nasales y del tracto gastrointestinal (Todar K. 2016). Las toxinas más importantes secretadas por *S. aureus* son: a) Hemolisinas (**α , β , γ , δ**), b) Leucotoxinas, c) Toxina exfoliativa, d) Enterotoxinas. Es capaz de causar una gran variedad de infecciones a los seres humanos. El tratamiento para las personas con infecciones por *S. aureus* consiste en la administración de antibióticos, pero el aumento constante en la incidencia de cepas multirresistentes a los antibióticos ha disminuido la eficacia de estos compuestos para combatir los padecimientos causados por esta bacterias (Paniagua-Contreras et al., 2014a). En esta tesina revisamos la bibliografía histórica y más reciente acerca de las toxinas extracelulares producidas por *S. aureus*.

Toxinas de *Staphylococcus aureus*

2. INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva anaerobia facultativa cuya morfología microscópica es de cocos de 0.5-1 micrómetro de diámetro agrupados en forma de racimo de uva, no es móvil y no forma esporas. Fue descubierta en 1880 por Sir Alexander Ogston (Smith, 1982). Sus colonias de 1-3 mm son de color amarillo brillante debido a que producen carotenoides y en agar sangre producen hemólisis (Figura 1). Fermenta la glucosa formando ácido láctico. También fermenta el manitol, característica que lo distingue del *Staphylococcus epidermidis*.

Forma parte de la flora normal de la piel, de la cavidad oral, de las fosas nasales y del tracto gastrointestinal (Todar K. 2016).

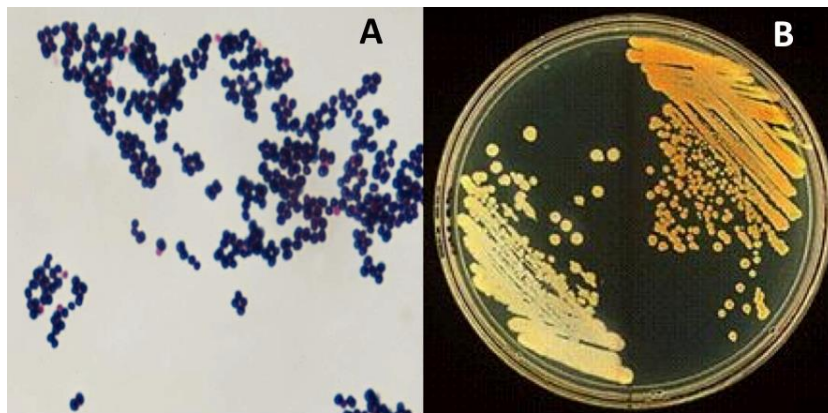


Figura 1. Morfología de *S. aureus* al microscopio óptico (A) y morfología colonial en S110 (B). (Fotografías: Paniagua-Contreras *et al.*, 2016)

Es capaz de causar una gran variedad de infecciones a los seres humanos. Puede producir abscesos leves en la piel (Singer *et al.*, 2014), infecciones profundas, intoxicación alimentaria y bacteremia. El tratamiento para las personas con infecciones por *S. aureus* consiste en la administración de antibióticos, pero el aumento constante en la incidencia de cepas multirresistentes a los antibióticos ha disminuido la eficacia de estos compuestos para combatir los padecimientos causados por esta bacterias (Paniagua-Contreras *et al.*, 2014a).

Frecuentemente *S. aureus* forma biopelículas en catéteres o implantes médicos (Doll *et al.*, 2016), condición que le facilita causar infecciones crónicas (Paniagua-Contreras *et al.*, 2014b; Hermann *et al.*, 2016).

La patogenicidad de *S. aureus* se debe principalmente a sus factores de adhesión y a las toxinas extracelulares que produce (Pinchuk *et al.*, 2010, Hennekininne *et al.*, 2012, Arciola *et al.*, 2015).

La membrana de las células del hospedero es un blanco para factores de virulencia producidos por las bacterias patógenas. Entre estos factores de virulencia destacan las toxinas bacterianas formadoras de poros en la membrana. La mayoría de las bacterias patógenas producen una o dos toxinas formadoras de poros en la membrana, pero algunas cepas de *S. aureus* pueden producir hasta 5 (Dumont & Torres, 2014).

En esta tesina revisamos la bibliografía histórica y la más reciente acerca de las toxinas extracelulares producidas por *S. aureus*, sus características bioquímicas, su mecanismo de acción, su papel en las distintas infecciones que causa esta bacteria, lo que se conoce sobre los mecanismos que regulan su producción y, por último, los esfuerzos que se están haciendo para tratar de combatir las infecciones que causa *S. aureus* a través de la neutralización de sus toxinas.

3. ANTECEDENTES

En 1872 Klebs relacionó teóricamente la patogenicidad de las bacterias con la producción de toxinas; en 1888 de Christmas demostró que los cultivos líquidos, calentados, de estafilococos recuperados de lesiones humanas eran tóxicos, y la actividad hemolítica de esos cultivos para eritrocitos de conejo fue reportada en 1894 por Van de Velde. En 1928, veintiún niños fueron inoculados en Bundaberg, Australia con una preparación no refrigerada que contenía una antitoxina contra la toxina diftérica; en las siguientes 48 h fallecieron 12 de ellos (Elek, 1959). De la preparación que contenía la antitoxina se aisló una cepa de *S. aureus*. El sobrenadante del cultivo líquido era hemolítico y letal para conejos (Burnet, 1929, 1930). La sintomatología de los niños que murieron indicó que la responsable de las muertes había sido una toxina hemolítica. Esta desgracia estimuló grandemente las investigaciones acerca de las toxinas de *S. aureus*.

4. TOXINAS

S. aureus secreta sus toxinas proteicas durante las fases de crecimiento post-exponencial y estacionaria. Estas toxinas le permiten penetrar los tejidos del hospedero e invadirlo. Las toxinas citolíticas le permiten adquirir nutrimentos esenciales de las células lisadas, hierro entre otros.

Las toxinas más importantes secretadas por *S. aureus* son:

- a) Hemolisinas (**α , β , γ , δ**)
- b) Leucotoxinas
- c) Toxina exfoliativa
- d) Enterotoxinas

4.1 HEMOLISINAS

En el orden de su descubrimiento, las hemolisinas de *S. aureus* fueron nombradas como alfa, beta, delta, gamma (Burnet, 1929, 1930; Smith & Price, 1938; Elek, 1950). En un trabajo ya clásico se estudiaron 200 cepas coagulasa positivas de *Staphylococcus* de origen humano y se encontró que 96% produjeron alfa-hemolisina, 11% beta-hemolisina y 97% delta-hemolisina. Todas ellas produjeron una o más hemolisinas y la combinación más común fue alfa-delta (Elek, 1950).

Las hemolisinas alfa, beta, delta y gama son toxinas que lisan a los hematocitos. Con excepción de la delta, la acción de las hemolisinas está mediada por un receptor.

La **α -hemolisina (Hla)** conocida también como α -toxina, fue identificada a principios del siglo pasado (Burnet 1929) y su gen fue secuenciado en 1984 (Gray & Kehoe). Es la más estudiada, es una citotoxina que lisa a los glóbulos rojos y a los leucocitos pero no a los neutrófilos (Valeva *et al.*, 1997). *S. aureus* la secreta como un solo polipéptido de 239 aminoácidos (\approx 33 kDa) soluble en agua que se une al receptor ADAM10, una proteína de membrana con actividad de metaloproteasa dependiente de Zn^{+2} , conocida como desintegrina y metaloproteasa 10 (Wilke & Bubeck Wardenburg, 2010; von Hoven *et al.*, 2016;). Una vez unida, se oligomeriza y forma un poro heptamérico en la membrana de las células blanco (Gouaux *et al.*, 1994; Figura 2). Esta perforación de la membrana celular provoca un influjo de iones Ca^{+2} , un eflujo de iones K^{+} y una disminución drástica de los niveles intracelulares de ATP; este desequilibrio de la homeostasis causa la muerte de las células.

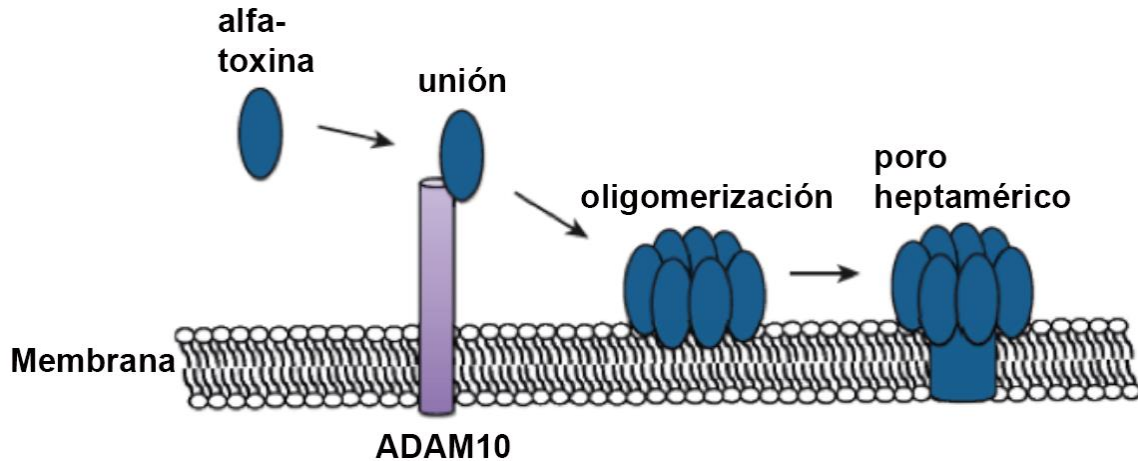


Figura 2. Mecanismo de formación del poro de la α -hemolisina por *Staphylococcus aureus*. El reconocimiento del receptor membranal ADAM10 por la α -hemolisina conduce la formación de un poro homoheptamérico (Dumont & Torres, 2014).

La α -hemolisina también es dermonecrótica y neurotóxica, y mata a animales experimentales como los ratones y los conejos; aparentemente su mecanismo de acción letal se debe a su acción sobre el sistema circulatorio (hemólisis intravascular, constricción de las arterias coronarias) o el sistema nervioso central (colapso de la actividad bioeléctrica del cerebro) (Rogolsky, 1979). La α -hemolisina también altera las membranas de hepatocitos (Bernheimer *et al.*, 1972), fibroblastos humanos diploides y células HeLa (Thelestam *et al.*, 1973).

La **β -hemolisina** no forma poros en la membrana; es una esfingomielinasa que hidroliza la esfingomielina (Doery & North, 1961; Doery *et al.*, 1963) y lisa a los monocitos, pero no a los linfocitos, y solo a bajas temperaturas a los eritrocitos (Walev *et al.*, 1996). Se ha propuesto que probablemente la β -hemolisina

desestabiliza la bicapa lipídica de la membrana celular al hidrolizar la esfingomielina, causándole irregularidades en su fluidez (Vandenesch *et al.*, 2012). La β -hemolisina también participa en la formación de biofilm. Los biofilms son comunidades de microbios rodeadas por una matriz extracelular asociadas a una superficie. El DNA extracelular (eDNA) es un componente estructural importante en los biofilms formados por *S. aureus*. Además de su actividad de esfingomielinasa, la β -hemolisina también tiene actividad de ligasa del biofilm, es decir, es capaz de oligomerizarse covalentemente y precipitar en presencia del eDNA que se halla en el biofilm formando una matriz nucleoproteica (Huseby *et al.*, 2010). Las dos actividades de la β -hemolisina como factor de virulencia de *S. aureus* que contribuye a la colonización y el desarrollo de la enfermedad se han demostrado claramente ya que las mutantes en este gen son deficientes en la actividad de esfingomielinasa y de ligasa del biofilm; estas deficiencias les impiden causar endocarditis infectiva y sepsis en un modelo *in vivo* con conejos (Herrera *et al.*, 2016).

La β -hemolisina purificada es inestable en solución y pierde su actividad en menos de 24 h a 4°C o -20°C, pero es estable una vez liofilizada (Wadström & Mølby, 1971).

La **δ -hemolisina**, también conocida como δ -toxina o δ -lisina, es una modulina fenol soluble (PSM, por sus siglas en inglés: Phenol-Soluble-Modulin) que no

requiere un receptor para efectuar su actividad hemolítica, su modo de acción se basa en su interacción directa con la membrana. Es un péptido de 26 aminoácidos y 2.9 kDa (Fitton *et al.*, 1980). Fue reportada por primera vez a mediados del siglo XX (Williams & Harper, 1947).

Dependiendo de su concentración la δ -hemolisina puede perturbar ligeramente la membrana o matar a la célula. La δ -hemolisina lisa eritrocitos de caballo, conejo, humano cuyo, cerdo, vaca, borrego, cabra gato y pollo (Kreger et al., 1971).

El gen que codifica la δ -hemomolisina (*hld*) forma parte del locus *agr* (acesory gen regulator). Este locus está formado por 5 genes: *agrBDCA* y *hld* que dan origen a dos transcritos divergentes, el RNA II, que codifica *agrBDCA*, y el RNA III, que codifica *hld* (Figura 3).

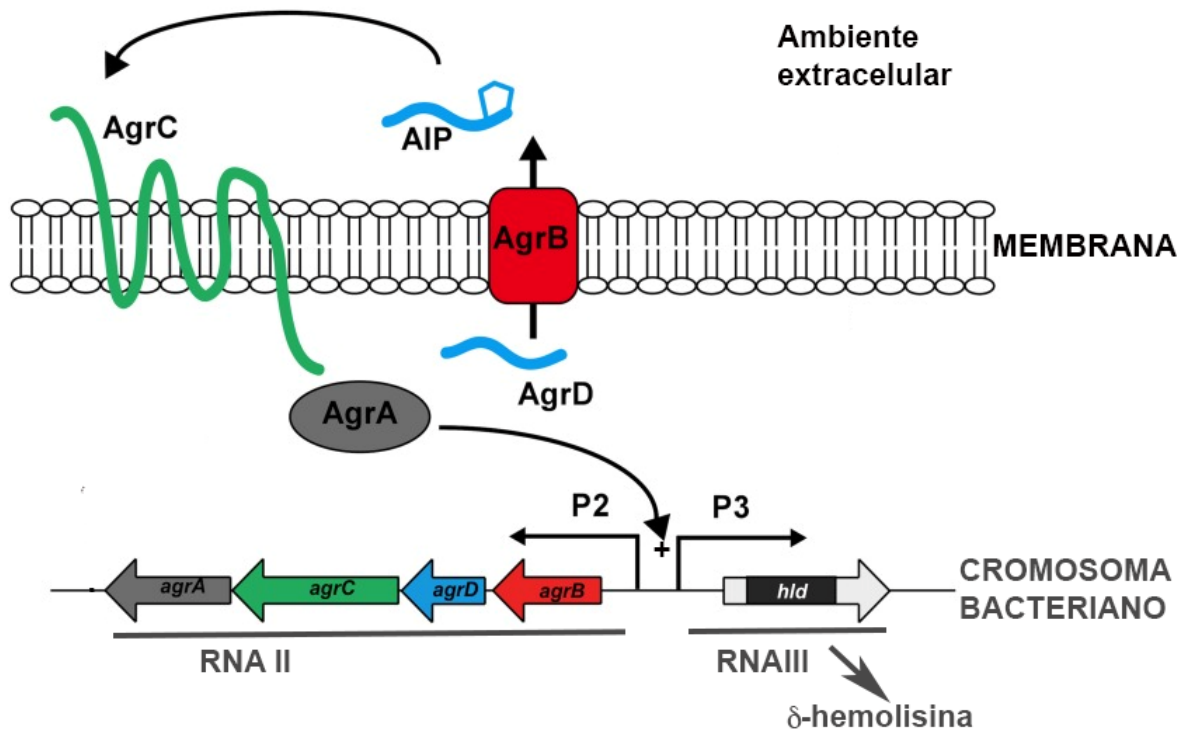


Figura 3. Sistema regulatorio de dos componentes *agr* de *S. aureus* (quorum sensing). El gen de la δ -hemolisina está codificado por el RNA III, cuya expresión está regulada por el regulador de respuesta AgrA (Novick et al., 1993; Verdon *et al.*, 2009; Le *et al.*, 2014).

El sistema Agr es un sistema autoregulatorio que controla la expresión de genes en respuesta al aumento del número de bacterias. Está formado por el gen estructural que codifica la señal extracelular (AgrD), la cual es modificada post-traduccionalmente y exportada vía AgrB. Después de alcanzar cierta concentración umbral, el péptido autoinductor AgrD (AIP) provoca la autofosforilación de la histidina cinasa AgrC, lo que a su vez conduce a la fosforilación y activación del regulador de respuesta AgrA. AgrA se une al DNA y activa la transcripción de los promotores P2 y P3. La transcripción a partir de P3 origina el mRNA de la δ -hemolisina (Verdon *et al.*, 2009; Le *et al.*, 2014).

La **γ -hemolisina (Hlg)** fue descrita por vez primera en 1938 (Smith & Price). Es una toxina citolítica, secretada por *S. aureus*, que está formada por dos proteínas distintas solubles en agua una de 34 kDa y otra de 32 kDa. Hlg lisa eritrocitos de conejo, humano, cabra, perro y ave, pero no de caballo; también lisa leucocitos humanos y es citotóxica para linfoblastos humanos (Fackrell & Wiseman, 1976). Se ensambla como un complejo en forma de anillo sobre la superficie de los eritrocitos (Sugawara et al., 1997) (Figura 4). El locus genético de la γ -hemolisina está formado por tres genes que originan dos toxinas bicomponentes funcionales: HlgAB y HlgCB (Cooney et al., 1993). HglA y HglC son los componentes S y HglB es el componente F. Hasta ahora se desconocen los receptores que reconocen en la superficie de las células blanco, pero se han asociado a la artritis séptica en ratones, a la inflamación y la patogénesis en infecciones oculares en un modelo de conejo, y a una contribución modesta a la letalidad observada durante la sepsis aguda en ratones (Alonzo & Torres, 2014).

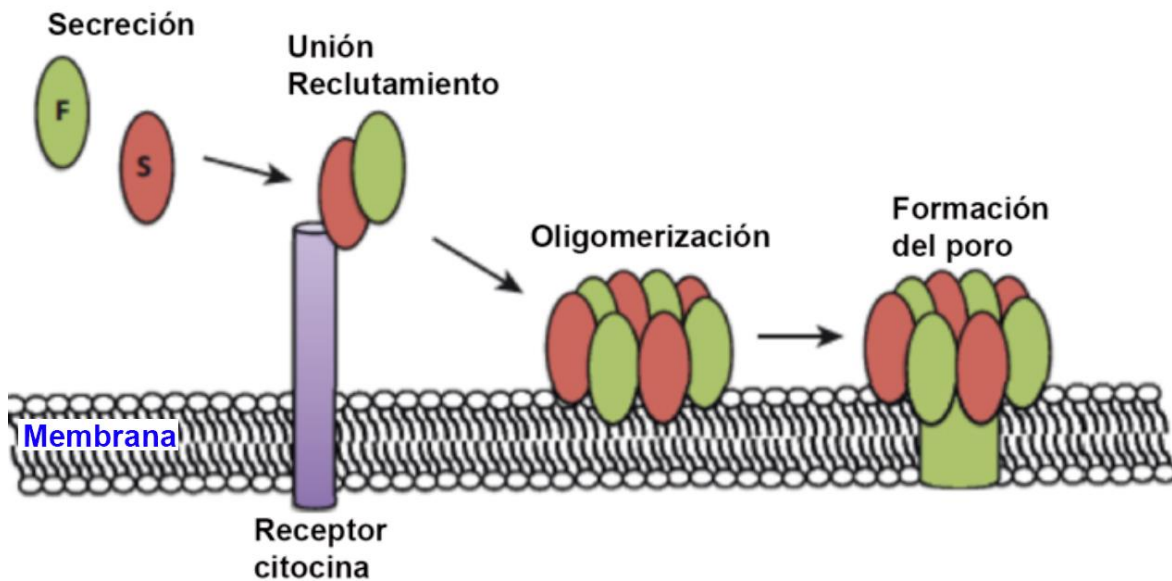


Figura 4. Mecanismo de formación del poro por las toxinas formadoras de poro de dos componentes (Hlg, entre otras). Estas toxinas están formadas por dos subunidades (S y F; Slow y Fast, por su elución en una columna cromatográfica). La subunidad S es la responsable de la unión al receptor (citocina CXCR1 o CXCR2). En Hlg la subunidad F corresponde a HglB, y la subunidad S a HglA o HglC. (Dumont & Torres, 2014).

4.2 LEUCOTOXINAS

Las leucotoxinas de *S. aureus* son proteínas que lisan a los glóbulos blancos y la mayoría requiere receptores para llevar a cabo su acción. Son de la familia de toxinas de dos componentes Luk. Entre ellas se encuentra la leucocidina Pantón-Valentine (PVL) formada por las proteínas LukF y LukS; la leucodina LukDE, la LukAB (conocida también como LukGH). Se ha reportado que la leucotoxina PVL es 100 veces más potente que las otras. La neutralización de las leucotoxinas se ha propuesto como estrategia para combatir las infecciones causadas por *S. aureus* (Kong C *et al.*, 2016). Existen preparaciones comerciales de inmunoglobulinas policlonales contra PVL para administrarse intravenosamente; éstas contienen anticuerpos específicos contra PVL y tienen efecto anti-leucotóxico al interferir con

la unión de PVL a los neutrófilos (Gauduchon *et al.*, 2004). Otros agentes para combatir a *S. aureus* antagonizando sus toxinas incluyen anticuerpos monoclonales contra PVL y otras leucotoxinas, los cuales neutralizan la actividad lítica de varias leucotoxinas sobre células polimorfonucleares (Adhikari *et al.*, 2015,); y varios agentes más dirigidos contra α -hemolisina (Sampedro *et al.*, 2014) o contra SEB (Dutta *et al.*, 2015).

4.3 ENTEROTOXINAS

Las enterotoxinas producidas por *S. aureus* (SEs, por staplylococcal enterotoxins) son los agentes etiológicos del envenenamiento alimentario en el hombre; son también superantígenos inmunológicos potentes que producen importantes síndromes clínicos debido a su capacidad para inducir la activación y proliferación de los linfocitos T, y de células accesorias, que conducen a la producción y proliferación de mediadores proinflamatorios (Pinchuk *et al.*, 2010). Las enterotoxinas atribuidas a *S. aureus* son: SEA, SEB, SEC, SED, SEE (Marrack & Kappler, 1990), SEG, SEH (Jarraud *et al.*, 2001), SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM (Chiang *et al.*, 2006), SEN, SEO, SEP, SER y SEU (Chiang *et al.*, 2008). Estas toxinas son proteínas formadas por 2 20-240 aminoácidos, de aproximadamente 25 kDa; están codificadas en plásmidos, fagos, islas de patogenicidad y elementos genéticos móviles (Omoe *et al.*, 2005). Estas enterotoxinas se identificaron después de aislarlas de alimentos involucrados en intoxicaciones alimentarias y de muestras clínicas de los pacientes intoxicados (Asao *et al.*, 2003; Do Carmo *et al.*, 2004). Las

enterotoxinas son pirogénicas, causan náusea, gastroenteritis, dolor abdominal, vómito y diarrea, la cual puede ocasionar pérdida importante de líquidos y de electrolitos. La intoxicación alimenticia por *S. aureus* se debe generalmente a la deficiente manipulación de los alimentos. Esta bacteria puede crecer en intervalos amplios de temperatura, pH y concentración de NaCl (Le Loir *et al.*, 2003), lo que le permite contaminar una gran variedad de alimentos; además, las enterotoxinas son altamente resistentes a la desnaturalización por calor y ácido, por lo que permanecen intactas en los alimentos contaminados y pueden causar brotes de intoxicaciones alimenticias. Las SEs son resistentes a la inactivación por las proteasas intestinales pepsina, renina, tripsina y papaína (Le Loir *et al.*, 2003) y actúan a dosis muy bajas. En estudios con voluntarios se encontró que 50 µg de SEB enfermaban a personas de 65 kg (Raj & BergDoll 1969), aunque se ha estimado que dosis de 200 ng de SEA son capaces de enfermar (Evenson ML, *et al.*, 1988). Una dosis de 0.02 µg/kg de SEB puede ser letal (Gill DM, 1982). El período de incubación de la enfermedad alimenticia causada por *S. aureus* es de 2-6 h. Una sola cepa de *S. aureus* puede tener 3-6 y hasta 12 genes de enterotoxinas (Varshney *et al.*, 2009; Paniagua *et al.*, 2014c).

4.4 TOXINA EXFOLIATIVA

La toxina exfoliativa (ET) es una proteína extracelular producida por *S. aureus* que causa una dermatosis inflamatoria, denominada impétigo, que se caracteriza por la presencia de vesículas aisladas o aglomeradas que contienen pus. En su forma diseminada la infección se conoce como síndrome estafilocócico de la piel escaldada (staphylococcal scalded-skin syndrome, SSSS) (Ladhani et al., 1999). La enfermedad afecta principalmente a los recién nacidos y a los niños. Se han descrito tres isoformas de toxina exfoliativa: ETA, ETB y ETD, las cuales son serín-proteasas específicas de glutamato que hidrolizan un sólo enlace peptídico en la región extracelular de la desmogleína 1 (Dsg1) una molécula de adhesión célula-célula tipo cadherina (Amagai et al., 2000). El gen que codifica ETA (*eta*) está codificado en un profago integrado al cromosoma de *S. aureus* (38), mientras que *etb* (que codifica ETB) se localiza en el plásmido pETB (Freer J H & Arbuthnott JP. 1982) de 38.8 kb que también contiene, entre otros elementos, una región con un operón para resistencia al cadmio (Yamaguchi et al., 2001). El gen para ETD (*etd*) está en una isla de patogenicidad (Yamaguchi et al., 2002).

5. CONCLUSIONES

S. aureus es un patógeno importante por las infecciones que causa y por la resistencia a múltiples antibióticos que muestran las cepas aisladas de los pacientes. En esta tesina hemos hecho una revisión de las toxinas más importantes que secreta este coco Gram positivo:

- a) Hemolisinas (**α , β , γ , δ**)
- b) Leucotoxinas
- c) Toxina exfoliativa
- d) Enterotoxinas

La neutralización de algunas de ellas con anticuerpos o con compuestos químicos es un campo de investigación muy activo y prometedor para enfrentar a esta bacteria sin tener que recurrir a antibióticos (Kong C *et al.*, 2016), cuyo uso conduce a la selección de cepas resistentes y al empleo de nuevos antibióticos en una carrera antibiótico-resistencia-antibiótico-resistencia que parece no tener fin.

6. REFERENCIAS

Adhikari RP, Kort T, Shulenin S, Kanipakala T, Ganjbaksh N, Roghmann MC, Holtsberg FW, Aman MJ. 2015. Antibodies to *S. aureus* LukS-PV attenuated subunit vaccine neutralize a broad spectrum of canonical and non-canonical bicomponent leukotoxin pairs. PLoS ONE 10: e0137874.

Alonzo F, Torres VJ. 2014. The bicomponent pore-forming leucocidins of *Staphylococcus aureus*. Microbiol Mol Biol Rev 78:199-230.

Amagai M, Matsuyoshi N, Wang ZH, Andl C, Stanley JR. 2000. Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. Nat Med 6:1275-1277.

Arciola CR, Campoccia D, Ravaioli S, Montanaro L. 2015. Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. Front Cell Infect Microbiol 5:7. doi: 10.3389/fcimb.2015.00007.

Asao T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H, Kozaki S. 2003. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: Estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. Epidemiol Infect 130:33-40.

Bernheimer AW, Kim KS, Remsen CC, Antanavage J, Watson SW. 1972.

Factors affecting interaction of staphylococcal alpha toxin with membranes. *Infect Immun* 6:636-642.

Burnet FM 1929. The exotoxins of *Staphylococcus pyogenes aureus*. *J Pathol Bacteriol* 32:717-734.

Burnet FM 1930. The production of staphylococcal toxin. *J Pathol Bacteriol* 33:1-

16.

Cooney J, Kienle Z, Foster TJ, O'Toole PW. 1993. The gamma hemolysin

locus of *Staphylococcus aureus* comprises three linked genes, two of which are identical to the genes for the F and S components of leukocidin. *Infect Immun* 61:768-771.

Chiang YC, Chang LT, Lin CW, Yang CY, Tsen HY. 2006. PCR primers for the

detection of staphylococcal enterotoxins K, L, and M and a survey of staphylococcal enterotoxin types in *Staphylococcus aureus* isolates from food poisoning cases in Taiwan. *J Food Prot* 69:1072-1079.

Chiang YC, Liao WW, Fan CM, Pai WY, Chiou CS, Tsen HY. 2008. PCR

detection of staphylococcal enterotoxins (SEs) N,O,P,Q,R U, and survey of SE types

in *Staphylococcus aureus* isolates from food poisoning cases in Taiwan. Int J Food Microbiol 121:66-73.

De Christmas MJ. 1888. Recherches experimentales sur la suppuration. Ann Inst Pasteur Paris 2:469-478

Doery HM, North EA. 1961. The interaction of staphylococcal toxin and ganglioside. I. Inactivation of the lethal effect of staphylococcal toxin in mice. Aust J Exp Biol Med Sci 39:333-344.

Doery HM, Magnusson BJ, Cheyne IM, Gulasekharam J. 1963. A phospholipase in staphylococcal toxin which hydrolyses sphingomyelin. Nature (London) 198:1091-1092.

Do Carmo LS, Cummings C, Linardi VR, Dias RS, De Souza JM, De Sena MJ, Dos Santos DA, Shupp JW, Pereira RKP, Jett M. 2004. A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident. Foodborne Pathog Dis 1:241-246.

Doll K, Jongsthaphonpun KL, Stumpp NS, Winkel A, Stiesch M. 2016. Quantifying implant-associated biofilms: Comparison of microscopic, microbiologic and biochemical methods. Journal of Microbiological Methods 130:61-68.

DuMont AL, Torres VJ. 2014. Cell targeting by the *Staphylococcus aureus* pore-forming toxins: it's not just about lipids. Trends Microbiol. 22:21-27.

Dutta K, Varshney AK, Franklin MC, Goger M, Wang X, Fries BC. 2015. Mechanisms mediating enhanced neutralization efficacy of staphylococcal enterotoxin B by combinations of monoclonal antibodies. J Biol Chem 290:6715–6730.

Elek SD, Levy E. 1950. Distribution of hemolysis in pathogenic and non-pathogenic staphylococci. J Pathol Bacteriol 62:541-554.

Elek SD. 1959. *Staphylococcus pyogenes* and its relation to disease. Churchill Livingstone, Edinburg.

Evenson ML, Hinds MW, Bernstein RS, Bergdoll MS. 1988. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. Int J Food Microbiol 7:311-316.

Fitton JE, Dell A, Shaw DV. 1980. The amino acid sequence of the delta haemolysin of *Staphylococcus aureus*. FEBS Lett 115:209-212.

Frackel HB, Wiseman GM. 1976. Properties of the gamma haemolysin of *Staphylococcus aureus* "Smith 5R". J Gen Microbiol 92:11-24.

Freer J H, Arbuthnott JP. 1982. Toxins of *Staphylococcus aureus*. Pharmacol Ther 19:55-106.

Gauduchon V, Cozon G, Vandenesch F, Genestier AL, Eyssade N, Peyrol S, Etienne J, Lina G. 2004. Neutralization of *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin by intravenous immunoglobulin *in vitro*. J Infect Dis 2004, 189, 346–353.

Gill DM. 1982. Bacterial toxins: a table of lethal amounts. Microbiol Rev 46:86-94.

Gray GS, Kehoe M. 1984. Primary sequence of the alpha toxin gene from *Staphylococcus aureus* strain 46. Infect Immun 46:615-618.

Gouaux JE, Braha O, Hobaugh MR, Song L, Cheley S, Shustak C, Bayley H. 1994. Subunit stoichiometry of staphylococcal alpha-hemolysin in crystals and on membranes: a heptameric transmembrane pore. Proc Natl Acad Sci USA 91:12828-12831.

Hennekininne JA, De Buyser ML, Dragacci S. 2012. *Staphylococcus aureus* and its poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol Revs 36:815-836.

Herrera A, Vu BG, Stach CS, Merriman JA, Horswill AR, Salgado-Pavón W, Schlievert PM. 2016. *Staphylococcus aureus* β -toxin mutants are defective in biofilm ligase and sphingomyelinase activity, and causation of infective endocarditis and sepsis. Biochemistry 55:2510-2517

Hermann M, Smeltzer SM. 2016. Clinical significance in humans. En: *Staphylococcus: Genetics and Physiology*, Greg. A. Somerville (ed). Caister Academic Press

Huseby MJ, Kruse AC, Digre J, Kohler PL, Vockle JA, Mann EE, Bayles KW, Bohach GA, Sclievert PM, Ohlendorf DH, Earhart CA. 2010. Beta toxin catalyzes formation of nucleoprotein matrix in staphylococcal biofilms. Proc Natl Acad Sci 107:14407-14412.

Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougel C, Etienne J, Vandenesch F, Bonneville M, Lina G. 2001. EGC, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. J Immunol 166:669-677.

Klebs E. 1872. Beitrage zur pathologischen. Anatomie der Schusswunde. p. 104-122. Leipzig.

Kong C, Neoh HM, Nathan S. 2016. Targeting Staphylococcus aureus toxins: a potential form of anti-virulence therapy. Toxins (Basel) 15; 8(3). doi: 10.3390/toxins8030072.

Kreger AS, Kim KS, Zaboretzky F, Bernheimer AW. 1971. Purification and properties of staphylococcal delta hemolysin. Infect Immun 3:449-465.

Ladhani S, Joannou CL, Lochrie DP, Evans RW, Poston SM. 1999. Clinical, microbial, and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndrome. Clin Microbiol Rev 12:224-242.

Le KY, Dastgheyb S, Ho TV, Otto M. 2014. Molecular determinants of staphylococcal biofilm dispersal and structuring. Front Cell Infect Microbiol 4:167.

Le Loir Y, Baron F, Gautier M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res 2:63-76.

Marrack P, Kappler J. 1990. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. Science 248:705-711.

Omoe K, Hu HD, Takahashi-Omoe H, Nakane A, Shinagawa K. 2005. Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. FEMS Microbiol Lett 246:191-198.

Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. 2010. Staphylococcal enterotoxins. Toxins (Basel) 2:2177-2197.

Novick RP, Ross HF, Projan SJ, Kornblum J, Kreiswirth B, Moghazeh S. 1993. Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule. EMBO J 12:3967-3975.

Paniagua-Contreras GL, Monroy-Pérez E, Vaca-Paniagua F, Rodríguez-Moctezuma JR, Negrete-Abascal E, Vaca S. 2014a. Implementation of a novel *in vitro* model of infection of reconstituted human epithelium for expression of virulence genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from catheter-related infections in Mexico. Ann Clin Microbiol Antimicrob 13:6

Paniagua-Contreras G, Monroy-Pérez E, Gutierrez-Lucas R, Sainz-Espuñes T, Bustos-Martínez J, Vaca S. 2014b. Genotyping characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares

and catheter of ambulatory hemodialysis patients in Mexico. *Folia Microbiol (Praha)* 59:295-302.

Paniagua-Contreras GL, Monroy-Pérez E, Vaca-Paniagua F, Rodríguez-Moctezuma JR, Vaca S. 2014c. Expression of enterotoxin-coding genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from Mexican haemodialysis patients. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 13:55.

Paniagua-Contreras GL, Monroy-Pérez, E, Uribe-García A, Vaca S. 2016. PCR. ANÁLISIS MOLECULAR: caracterización de bacterias y levaduras de interés médico. 153 pág. Editorial FES Iztacala (En prensa).

Pinchuk, IV, Beswick EJ, Reyes VE. 2010. *Staphylococcal* enterotoxins. *Toxins* 2:2177-2197.

Raj HD, Bergdoll MS. 1969. Effect of enterotoxin B on human volunteers. *J Bacteriol* 98:833-834.

Rogolsky M. 1979. Nonenteric toxins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Rev* 43:320-360.

Sampedro GR, DeDent AC, Becker RE, Berube BJ, Gebhardt MJ, Cao H, Bubeck Wardenburg J. 2014. Targeting *Staphylococcus aureus* alpha-toxin as a novel approach to reduce severity of recurrent skin and soft-tissue infections. J Infect Dis 210:1012–1018.

Singer AJ, Talan DA. 2014. Management of skin abscesses in the era of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. New Engl J Med 370:10-39-1047

Todar K. Todar's Online Text Book of Bacteriology. <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html>).

Smith G. 1982. Ogston's coccus: 102 years and still going strong. South Med J 75:1559-1562.

Smith ML, Price SA. 1938. *Staphylococcus* gamma hemolysin. J Pathol Bacteriol 47:379-393.

Sugawara A N, Tomita T, Kamio Y. 1997. Assembly of *Staphylococcus aureus* γ -hemolysin into a pore-forming ring-shaped complex on the surface of human erythrocytes. FEBS Lett 410:333-337.

Thelestam M, Mölby R, Waström T. 1973. Effects of Staphylococcal alpha-beta- delta- and gamma-hemolysins on human diploid fibroblasts and Hela cells: evaluation of a new quantitative assay for measuring cell damage. *Infect immun* 8:938-946.

Yamaguchi T, Hayashi T, Takami H, Ohnishi M, Murata T, Nakayama K, Asakawa K, Ohara M, Komatsuzawa H, Sugai M. 2001. Complete nucleotide sequence of a *Staphylococcus aureus* exfoliative toxin B plasmid and identification of a novel ADP-ribosyltransferase, EDIN-C. *Infect Immun* 69:7760-7761.

Yamaguchi T, Nishifuji K, Sasaki M, Fudaba Y, Aepfelbacher M, Takata T, Ohara M, Komatsuzawa H, Amagai M, Sugai M. 2002. Identification of the *Staphylococcus aureus etd* pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. *Infect Immun* 70:5835-5845.

Van de Velde H. 1894. Etude sur le mecanisme de la virulence du *Staphylocoque pyogene*. *Cellule* 10:401-460.

Vandenesch F, Lina G, Henry T. 2012. *Staphylococcus aureus* hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: A redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors? *Front Cell Infect Microbiol* 2:12

Valeva A, Walev I, Pinkernell M, Walker B, Bayley H, Palmer M, Bhakdi S. 1997. Transmembrane beta-barrel of staphylococcal alpha-toxin forms in sensitive but not in resistant cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:11607–11611.

Varshney AK, Mediavilla JR, Robiou N, Guh A, Wang X, Gialanella P, Levi MH, Kreiswirth BN, Fries BC. 2009. Diverse enterotoxin gene profiles among clonal complexes of *Staphylococcus aureus* isolates from the Bronx, New York. *Appl Environ Microbiol* 75:6839-6849.

Verdon J, Girardin N, Lacombe C, Berjeaud JM, Héchard Y. 2009. δ -hemolysin, an update on a membrane-interacting peptide. *Peptides* 30:817-823.

von Hoven G, Rivas AJ, Neukirch C, Klein S, Hamm C, Qin C, Meyenburg M, Füser S, Saftig P, Hellman N, Postina R, Husmann M. 2016. Dissecting the role of ADAM10 as a mediator of *Staphylococcus aureus* α -toxin action. *Biochem J* 473:1929-1940.

Wadström T, Mølby R. 1971. Studies on extracellular proteins from *Staphylococcus aureus*. VI. Production and purification in large scale. *Biochim Biophys Acta* 242:288-307.

Walev I, Weller U, Strauch S, Foster T, Bhakdi S. 1996. Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*. Infect Immun 64:2974–2979.

Wilke GA, Bubeck Wardenburg J. 2010. Role of a disintegrin and metalloprotease 10 in *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin-mediated cellular injury. Proc Natl Acad Sci USA 107:13473-13478.

Williams REO, Harper GJ. 1947. Staphylococcal haemolysins on sheep-blood agar with evidence for a fourth haemolysin. J Pathol Bacteriol 59:69-78.