

Cours International Francophone de Vaccinologie 2009

Université Victor Segalen Bordeaux 2 - Ecole du Val-de-Grâce

Diplôme Universitaire

Le staphylocoque doré
(*Staphylococcus aureus*)
un état des lieux

Mémoire présenté le 21 octobre 2009 par

Anne FIQUET

née le 9 juin 1959

Président du jury : Pr D Malvy

Membres du jury : Pr JL Koeck - Pr P Saliou – Pr R Teyssou

TABLES DES MATIÈRES

Résumé.....	3
Summary	4
Abréviations	5
1 Habitat de <i>S. aureus</i>	6
2 Lésions induites chez l'homme par <i>S. aureus</i>	7
3 Résistance antimicrobienne de <i>S. aureus</i>	8
4 Epidémiologie de <i>S. aureus</i> résistant à la méthicilline.....	9
5 Défi des programmes de développement d'un vaccin	11
5.1 Structure de la population de <i>S. aureus</i>	11
5.2 Les facteurs de virulence de <i>S. aureus</i>	12
5.3 Vaccination contre <i>S. aureus</i> chez la vache laitière.....	15
5.4 Vaccination et immunothérapie passive contre <i>S. aureus</i> chez l'homme.....	16
5.4.1 Candidats vaccins étudiés chez l'homme	17
5.4.1.1 StaphVAX®	17
5.4.1.2 Vaccin V710 (0657nl).....	18
5.4.1.3 STEBVax	18
5.4.2 Immunothérapie passive étudiée chez l'homme.....	18
5.4.2.1 Veronate® et Aurexis®.....	18
5.4.2.2 AltaStaph®.....	20
5.4.2.3 Aurograb®.....	20
5.4.2.4 Pagibaximab®	20
6 Conclusion.....	21
7 Références	22

Résumé

Les Staphylocoques sont des Cocci à Gram positif classiquement disposés en amas. L'espèce *Staphylococcus aureus* (plus communément appelé staphylocoque doré) se distingue généralement des autres staphylocoques appelés staphylocoques à coagulase négative (SCN) par la présence d'une coagulase.

Il y a plus d'un siècle, le chirurgien écossais Alexander Ogston a le premier mis en évidence une association entre abcès cutanés et un organisme se présentant sous la forme de grappes de raisin au microscope optique. Cet organisme, *S. aureus*, est maintenant connu pour être responsable de nombreuses infections acquises hors et à l'hôpital et de syndromes liés à l'action de toxines. *S. aureus* est la bactérie la plus fréquemment isolée chez des patients atteints d'infections nosocomiales.

S. aureus est le pathogène le plus virulent de l'espèce *Staphylococcus* et une cause majeure de morbidité et de mortalité.

A l'heure actuelle les programmes de développement d'un vaccin contre les maladies staphylococciques sont dédiés à *S. aureus*. Mais en dépit de recherches intensives ces 10 dernières années, beaucoup d'interrogations subsistent et un seul vaccin est sur le marché, un vaccin vétérinaire commercialisé aux Etats-Unis depuis le milieu des années 1970 pour la prévention des mastites à *S. aureus* chez les vaches laitières mais il n'est pas uniformément efficace.

La plus importante de ces questions est sans doute celle de comprendre comment un organisme commensal pour la plupart des être humains peut devenir pathogène pour certains d'entre eux. A l'heure actuelle cette question d'importance est sans réponse.

Summary

Staphylococci are gram-positive bacterium organised in clusters. The species *Staphylococcus aureus* is different from the other designated coagulase-negative staphylococci by the presence of a coagulase.

More than a century ago, the Scottish surgeon Alexander Ogston first noticed an association between skin abscesses and an organism that formed structures resembling clusters of grapes when seen in light microscopy. This organism, *S. aureus*, is now known to be responsible for many community- or hospital-acquired infections and toxin-mediated diseases. *S. aureus* is the most frequent isolated bacterium from patients with nosocomial-acquired infections.

S. aureus is the most virulent pathogen of the genus *Staphylococcus* and a major cause of morbidity and mortality.

At the time being, vaccine development programs against Staphylococci-related diseases are dedicated to *S. aureus*. Despite intensive research over the past 10 years, many unanswered questions remain. There is currently only one *S. aureus* vaccine on the market, a veterinary vaccine commercially available in the USA since the mid-1970 for the prevention of *S. aureus* mastitis in dairy cattle but not uniformly efficacious.

Among these unanswered questions the most important one is probably how a commensal organism in most of the humans can cause invasive disease in some of them. So far we do not know the answer to this question.

Abréviations

AFLP	'Amplified fragment-length polymorphism'
ABC	'ATP-binding cassette'
CC	Complexes de clones
CP	'Capsular Polysaccharide'
IMM	Infection intra-mammaire
LPV	Leucocidine de Panton et Valentine
MLST	'MultiLocus Sequence Typing'
NIAID	National Institute of Allergy and Infectious Diseases
SAMS	<i>S. aureus</i> sensible à la méthicilline
SARM	<i>S. aureus</i> résistant à la méthicilline
SCC	'Staphylococcal Chromosomal Cassette'
SCN	Staphylocoques à coagulase négative
TSST-1	Toxine du choc toxique staphylococcique

1 Habitat de *S. aureus*

Le réservoir naturel des staphylocoques est l'homme et les animaux à sang chaud. Cependant, éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement. L'espèce *S. aureus* est commensale de l'homme car si l'hôte (homme) fournit une partie de sa propre nourriture au commensal, il n'obtient en revanche aucune contrepartie évidente de ce dernier, mais n'en subit aucun inconvénient (la relation est à bénéfique non-réciproque). A la différence du parasitisme, le commensalisme est une association non-destructrice pour l'hôte, ce dernier peut tout à fait continuer à vivre et évoluer en présence du commensal et, le plus souvent, « ignore » tout de la relation. Les survies des deux organismes sont interdépendantes. [1]

Le site de colonisation préférentielle de *S. aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. Cette colonisation est asymptomatique et il est estimé qu'environ 20% des individus hébergent *S. aureus* de façon permanente et qu'environ 30% l'hébergent de façon intermittente, cependant ces chiffres sont variables suivant les études. La prévalence de la colonisation nasale par *S. aureus* est plus élevée chez les jeunes enfants, les sujets de sexe masculin, les personnes de race caucasienne, les patients hospitalisés et les patients à risques notamment les sujets diabétiques, ceux sous hémodialyse ou dialyse chronique péritonéale en ambulatoire et les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine. Certains individus peuvent héberger *S. aureus* pendant des mois voire des années. [2] *S. aureus* colonise également des territoires cutanés en particulier les zones humides (aisselles, périnée) et les mains et il est retrouvé dans le vagin chez environ 10% des femmes en période de menstruation.

A la différence de *S. aureus*, les SCN représentent les principaux commensaux de la peau et la densité de colonisation est plus importante au niveau des zones humides comme la partie antérieure des narines, le périnée, les creux axillaires et les plis inguinaux. Ils peuvent aussi être isolés des muqueuses. *S. epidermidis* est l'espèce la plus fréquemment isolée.

La transmission intra ou interhumaine s'opère généralement par contact direct (manu-portage). Plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, matériels médicaux).

Comment la colonisation nasale par *S. aureus* s'installe et se maintient est à l'heure actuelle largement méconnue. Il faut par ailleurs admettre que la pertinence clinique du portage dans

la gorge ou périnéale n'a pas été complètement explorée. Plusieurs études ont confirmé que la majorité des infections nosocomiales à *S. aureus* était d'origine endogène c'est-à-dire que les souches nasales de *S. aureus* et les souches infectantes étaient du même phénotype ou génotype. Il semblerait que devant le risque de contracter une infection à *S. aureus*, les individus se répartissent en 2 catégories : les porteurs permanents (population à risque) et les autres incluant les porteurs intermittents et les non porteurs. [2,7]

2 Lésions induites chez l'homme par *S. aureus*

L'espèce *S. aureus* est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Les infections superficielles et invasives par *S. aureus* surviennent chez des sujets préalablement sains. La nature du risque infectieux est favorisée par la rupture de la barrière cutané-muqueuse et par la diminution des défenses immunitaires.

La pathogénicité de *S. aureus* peut être liée à son caractère invasif, ou à sa capacité d'entraîner une maladie "à distance" par sécrétion de toxines ou être une combinaison des deux.

Les souches de *S. aureus* sont connues pour provoquer des infections cutanées: furoncles, folliculites, panaris, impétigo, abcès mammaires chez les femmes qui allaitent. Les infections des muqueuses sont également fréquentes et peuvent atteindre les yeux (conjonctivites), les oreilles (otites), la sphère génitale (endométrite, salpingite) ou les voies respiratoires (pneumonies, pleurésies).

Toutes ces infections cutané-muqueuses sont susceptibles de se compliquer et d'aboutir à des septicémies. Quelque soit la porte d'entrée, l'évolution peut être fulminante, aiguë et associée à des localisations secondaires multiples et variées (valves cardiaques, poumons, os, articulations, rein, cerveau). Le choc toxique staphylococcique (rare mais souvent mortel), avec sa forme mineure, la scarlatine staphylococcique, sont dus à des souches productrices de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) ou d'entérotoxines. Le syndrome d'exfoliation généralisée, et sa forme mineure localisée, l'impétigo bulbeux, sont dus à des souches productrices d'exfoliatines.

Une autre toxine, la leucocidine de Panton et Valentine (LPV) sécrétée par de rares souches, entraîne des tableaux cliniques particuliers du caractère nécrosant des infections qu'elle cause au niveau cutané, pulmonaire et osseux.

S. aureus est fréquemment responsable d'infections nosocomiales en rapport avec le nombre croissant d'immunodéprimés et avec la multiplication des procédures invasives qui lèsent la barrière cutanéomuqueuse (interventions chirurgicales notamment en chirurgie cardiothoracique et orthopédique, pose de cathéters ou de sondes, implantation de prothèses, intubation,...). [3] De telles procédures favorisent la pénétration dans l'organisme de souches véhiculées par les patients ou par les membres de l'équipe soignante (transmission manuportée). Des infections aiguës ou chroniques des os, des articulations et du matériel prothétique sont fréquemment dues aux staphylocoques. Les formes chroniques avec formation d'un biofilm posent des problèmes thérapeutiques particuliers d'échec de l'antibiothérapie. [4]

S. aureus est également responsable d'intoxications. Ce sont les entérotoxines produites par des souches se multipliant dans les aliments qui déclenchent les symptômes : vomissements violents et répétés, souvent accompagnés de diarrhées. Le malade guérit généralement en un à deux jours sans séquelles. [5]

3 Résistance antimicrobienne de *S. aureus*

Avant l'introduction des antimicrobiens au début des années 1940, le taux de mortalité des infections invasives à *S. aureus* était d'environ 90%. Ce taux a nettement diminué avec l'introduction de la pénicilline G en pratique courante mais presque immédiatement des souches résistantes à la pénicilline sont apparues. A la fin des années 1940, la plupart des souches de patients hospitalisés était résistantes à la pénicilline et à l'heure actuelle la quasi-totalité (90%) des souches sont résistantes. Le mécanisme de résistance est la production d'une β -lactamase.

Au début des années 1960 un antibiotique β -lactame, la méthicilline, fut commercialisé et la résistance immédiatement identifiée. Même si la méthicilline n'est plus utilisée, le nom est resté pour définir les souches résistantes : SARM (*S. aureus* résistant à la méthicilline).

Les SARM sont résistants à tous les antibiotiques β -lactame y compris les céphalosporines. Heureusement à l'heure actuelle les SARM sont sensibles à la vancomycine, un antibiotique de la famille des glycopeptides. Cependant des souches résistantes à la vancomycine commencent à apparaître même si ces cas sont rares à l'heure actuelle [6]

Limiter l'utilisation des antibiotiques pourrait limiter l'émergence de souches résistantes. Souvent un drainage chirurgical de lésions superficielles est suffisant pour venir à bout de l'infection sans utiliser d'antibiotique. Une étude a montré que 30% des infections cutanées staphylococciques suffisamment sévères pour justifier une hospitalisation guérissent sans antibiotiques alors que la souche y aurait été résistante. [7]

Les mécanismes de résistance antimicrobienne de *S. aureus* en perpétuelle évolution mettent en évidence les limites de la stratégie antimicrobienne thérapeutique et suggère ainsi l'intérêt de développer une stratégie complémentaire d'ordre prophylactique.

4 Epidémiologie de *S. aureus* résistant à la méthicilline

Depuis leur apparition, la prévalence des SARM n'a cessé d'augmenter et il a fallu 25 à 30 ans pour qu'ils colonisent l'hôpital. Aux Etats-Unis, à l'hôpital, le pourcentage de SARM parmi les souches de *S. aureus* a cru de 2.4% en 1975 à 29% en 1991 et à cette date, 79% des hôpitaux ont reporté des cas de SARM. En 2003, le pourcentage de SARM parmi les souches de *S. aureus* dans les unités de soins intensifs aux Etats-Unis était de 59.5% avec une augmentation de 11% en 5 ans. Des augmentations similaires ont été rapportées dans d'autres pays et notamment en Europe. [7] Une diminution des infections à SARM a été obtenue dans de rares circonstances en Europe avec la mise en œuvre d'une lutte intensive contre les infections nosocomiales, par exemple dans les unités de soins intensifs en Grande Bretagne et dans certains centres hospitaliers en France. [8,9]

Une autre tendance est l'apparition de SARM dans la communauté. Tandis que les SARM sont apparus dans les hôpitaux à la fin des années 1940, la prescription de pénicilline pour les infections à *S.aureus* dans la communauté a continué d'être recommandée jusqu'au début des années 1970 car les souches y étaient encore sensibles à plus de 97%.

A partir des années 1970 les SARM ont diffusé dans la communauté à partir du réservoir hospitalier. Ces infections à SARM communautaires avaient en général un lien avec l'hôpital : soit le patient venait de faire un séjour récent à l'hôpital, soit il avait été dans un centre de soin, soit il avait subi l'implant d'un corps étranger. Ces infections à SARM

semblaient nosocomiales avec un début retardé après la sortie de l'hôpital. Un autre groupe à risque était les utilisateurs de matériel d'injection intraveineuse.

Puis, pour des raisons inconnues, les infections à SARM sont apparues dans certaines communautés sans lien évident avec le système de santé: détenus, athlètes, Aborigènes d'Australie et Amérindiens. Les possibles causes évoquées ont été le surpeuplement, l'hygiène précaire, les facteurs socio-économiques défavorables, les effractions cutanées dans le sport et l'utilisation massive préalable d'antibiotiques. La diffusion des SARM par l'activité sexuelle a également été évoquée possiblement par simple contact cutané.

A la fin des années 1990, lorsque la prévalence des SARM hospitaliers a atteint le seuil des 50% l'épidémiologie des SARM dans la communauté a changé et des infections sporadiques à SARM sont apparues dans la communauté chez des sujets préalablement sains sans facteur de risque connu, y compris chez des enfants. En 2002, aux Etats-Unis, jusqu'à 20% de SARM communautaires ont été isolés chez des sujets sans facteur de risque habituel. L'approche génétique de ces souches révèle la présence d'un gène *mecA* localisé sur un élément chromosomique mobile nommé SCC*mec* ('staphylococcal chromosomal cassette' *mec*) type IV qui les différencie des SARM hospitaliers (SCC*mec* type I à III). A l'inverse des SARM hospitaliers multi-résistants, les SARM communautaires restent sensibles à la plupart des antibiotiques autres que les β -lactames. De plus le profil des infections à SARM communautaires se rapproche plus de celui des infections communautaires à *S. aureus* sensible à la méthicilline (SAMS) que de celui des SARM hospitaliers avec une forte proportion d'infections cutanées et des tissus mous et une faible (mais non négligeable) proportion d'infections invasives. Cependant ces infections des tissus mous par les SARM communautaires peuvent être particulièrement destructrices avec des lésions cutanées nécrosantes et on voit aussi des pneumonies. Cette virulence des SARM communautaires a été mise sur le compte de la production d'une toxine, la LPV. La LPV est fréquemment exprimée par les SARM communautaires porteur du SCC*mec* type IV mais a également été isolée dans des lésions cutanées et des pneumonies causées par des SAMS.

Certains clones des staphylocoques particulièrement virulents circulent à l'hôpital et dans la communauté, comme les tristement célèbres USA100, USA300 et USA400.

L'épidémiologie des infections à staphylocoque est en perpétuelle évolution et des infections nosocomiales à SARM communautaire commencent à apparaître ainsi que des souches hospitalières dans la communauté. [7]

5 Défi des programmes de développement d'un vaccin

5.1 Structure de la population de *S. aureus*

Beaucoup de méthodes de phénotypage et géotypage ont été utilisées pour distinguer les souches de *S. aureus*. Les études de typage moléculaire par 'multilocus sequence typing' (MLST) ont permis de répartir les souches, aussi bien colonisantes qu'invasives de SARM et SAMS, en 5 agrégats génétiques: les complexes de clones (CC) 8, CC30, CC5, CC22 et CC45. Une analyse similaire de typage moléculaire par 'amplified fragment-length polymorphism' (AFLP) a démontré une répartition similaire des souches de *S. aureus* en 3 agrégats génétiques majeurs (I, II et III) et 2 mineurs (IVa et IVb). Les agrégats majeurs AFLP II et III correspondent aux MLST CC30 et CC45, respectivement et représentent environ la moitié des souches (47%). L'analyse par AFLP a révélé que les SAMR se répartissaient dans tous les agrégats majeurs suggérant que le gène *mecA* codant la résistance à la méthicilline a été acquis par toutes les sous-populations de *S. aureus*.

Les résultats d'une étude réalisée chez des porteurs sains suggèrent que les deux CC, CC30 et CC45 (correspondant aux agrégats majeurs AFLP II et III), ont colonisé avec succès l'espèce humaine indépendamment du lieu géographique des deux côtés de l'Atlantique.

Il est intéressant de noter qu'il n'a été trouvé aucune différence significative dans la distribution des géotypes entre les souches issues de sujets porteurs et celles issues de patients présentant une infection invasive. A l'heure actuelle, il a été démontré que tout géotype de *S. aureus* porté par l'homme ou l'animal peut se transformer en un pathogène pour l'homme mettant en jeu le pronostic vital et que certains clones sont plus virulents que d'autres. Il reste à déterminer si l'identification des clones de *S. aureus* les plus pathogènes en laboratoire peut être transposée en clinique. [10]

5.2 Les facteurs de virulence de *S. aureus*

La virulence de *S. aureus* est due à la sécrétion de multiples toxines et enzymes qui contribuent diversement à l'expression du pouvoir pathogène (se référer au Tableau 1).

En général, la capacité d'une bactérie à provoquer une maladie chez les être humains est due à un dépassement des défenses immunitaires innées qui sont la résistance aux peptides antimicrobiens et la mort par phagocytose leucocytaire. La première étape dans l'éradication des microorganismes invasifs est le recrutement actif des polynucléaires neutrophiles (appelés aussi granulocytes neutrophiles ou neutrophiles) par chimiotactisme au site de l'infection. La phagocytose est le processus pendant lequel les neutrophiles reconnaissent ces microorganismes et les ingèrent. C'est une étape clef dans l'élimination de la bactérie pendant l'infection. *S. aureus* possède un répertoire impressionnant de facteurs d'échappement immunitaire lui permettant de détourner les mécanismes de défense immunitaire de l'hôte. Le rôle crucial joué par les défenses immunitaires innées dans l'élimination du *S. aureus* invasif est reflété par l'abondance des mécanismes mis en jeu par la bactérie pour échapper à sa mort par phagocytose.

Table 1 <i>Staphylococcus aureus</i> molecules that contribute to immune evasion or alter host immune function		
Gene(s)	Protein or Molecule	Function/Effect on Immune System
<i>ahpC, ahpF</i>	Alkyl hydroperoxide reductase subunits C and F, AhpC and AhpF	Promotes resistance to reactive oxygen species (ROS)
<i>aur</i>	Zinc metalloproteinase aureolysin, Aur	Degrades LL-37
<i>cap5</i> or <i>cap8</i> genes	Capsular polysaccharide	Inhibits phagocytosis
<i>kata</i>	Catalase, Kata	Detoxifies hydrogen peroxide
<i>chp</i>	Chemotaxis inhibitory protein of <i>Staphylococcus aureus</i> , chemotaxis inhibitory protein of <i>S aureus</i>	Inhibits chemotaxis
<i>clfA</i>	Clumping factor A, ClfA	Inhibits phagocytosis, causes platelet activation
<i>crtM, crtN</i>	Carotenoid pigment, staphyloxanthin	Promotes resistance to ROS
<i>dlt operon</i>	Dlt operon, DltABCD	Promotes resistance to cationic antimicrobial peptides (AMPs) and group IIA phospholipase A ₂
<i>eap</i>	Extracellular adherence protein, Eap	Inhibits leukocyte adhesion
<i>ecb</i>	Extracellular complement-binding protein, Ecb	Inhibits C5a generation
<i>efb</i>	Extracellular fibrinogen-binding protein, Efb	Inhibits C5a generation
<i>fnbA, fnbB</i>	Fibronectin-binding proteins A and B, FnbA and FnbB	Cause platelet activation
<i>hla, hly</i>	Alpha-hemolysin (α -hemolysin), Hla	Causes host cell lysis
<i>hld</i>	Delta-hemolysin, Hld	Causes host cell lysis
<i>hlgA, hlgB, hlgC</i>	Gamma-hemolysin subunits A, B, and C; HlgA, HlgB, HlgC; two-component leukocidin	Causes leukocyte and erythrocyte lysis
<i>icaA, icaD, icaB, icaC, icaR</i>	Polysaccharide intercellular adhesin, PIA	Resistance to cationic AMPs
<i>isdA, isdB</i>	Iron-regulated surface determinants of <i>S aureus</i> , IsdA and IsdB	Resistance to AMPs, skin fatty acids, and neutrophil ROS
<i>lukS-PV, lukF-PV</i>	Leukocidin S-PV and F-PV subunits; LukS/F-PV; PVL; two-component leukocidin	Causes phagocyte lysis
<i>lukD, lukE</i>	Leukocidin D and E; LukD and LukE; two-component leukocidin	Causes leukocyte lysis

(continued on next page)

Table 1
Staphylococcus aureus molecules that contribute to immune evasion or alter host immune function

Gene(s)	Protein or Molecule	Function/Effect on Immune System
<i>mprF</i>	Multiple peptide resistance factor, MprF	Promotes resistance to cationic AMPs
<i>psm</i>	Phenol-soluble modulins-like peptides, PSMs	Cause leukocyte lysis
<i>sak</i>	Staphylokinase	Inhibits host α -defensins
<i>sbi</i>	IgG-binding protein, Sbi	Sequesters host IgG
<i>scn</i>	Staphylococcal inhibitor of complement, SCIN	Inhibits complement
<i>sea, seb, sec_n, sed, see, seg, seh, sei, sej, sek, sel, sep</i>	Staphylococcal enterotoxins; SEA, SEB, SEC _n , SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, and SEP	Activate T-cells
<i>sodA, sodM</i>	Superoxide dismutase, SodA, SodM	Promotes resistance to ROS
<i>spa</i>	Protein A	Sequesters host IgG, inhibits phagocytosis
<i>ssl5</i>	Staphylococcal superantigen-like 5, SSL5	Binds PSGL-1 and inhibits neutrophil rolling
<i>ssl7</i>	Staphylococcal superantigen-like 7, SSL7	Binds to C5a and IgA
<i>tst</i>	Toxic shock syndrome toxin-1, TSST1	Activates T-cells

Function of each molecule was determined based upon published studies. (Available at: PubMed, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/>). See also the review by T.J. Foster.⁵⁷

[11]

Ces mécanismes d'échappement immunitaire – qui permettent à la bactérie de ne pas être reconnue et donc de ne pas être éliminée – sont plutôt des mécanismes passifs. *S. aureus* produit aussi des toxines qui attaquent les globules sanguins rouges et blancs. Ces toxines sont de la famille des leucocidines, toxine α (appelée aussi hémolysine α) et autres hémolysines (β , γ , δ). Le rôle de ces leucocidines dans la virulence du *S. aureus* et la raison biologique de la présence de nombreuses toxines similaires ne sont pas connus.

Un autre mécanisme d'échappement immunitaire de *S. aureus* vient de la Protéine A. La Protéine A permet à *S. aureus* de devenir pathogène en séquestrant à la surface de la bactérie des anticorps non-spécifiques, se protégeant ainsi efficacement du système immunitaire adaptatif de l'hôte.

Enfin une hyperstimulation du système immunitaire est une autre façon d'interférer avec le système immunitaire de l'homme, qui est à l'opposé du mécanisme précédent mais tout aussi efficace. *S. aureus* produit un nombre important de toxines à activité "superantigénique" (exfoliatines A et B, TSST-1, entérotoxines A, B, C1, C2, D, E, ...). Ces "superantigènes" vont activer massivement et de façon non spécifique les cellules T induisant une réponse à la fois peu efficace car non spécifique et potentiellement dommageable pour l'organisme avec la libération massive de cytokines pro-inflammatoires dans la circulation sanguine. [11]

5.3 Vaccination contre *S. aureus* chez la vache laitière

Chez les vaches laitières, l'infection intra-mammaire (IMM) à *S. aureus* est habituellement infra-clinique, le réservoir de l'infection étant la glande mammaire infectée. La bactérie est généralement transmise de vache à vache durant la traite mécanique lorsque les pis entrent en contact avec la machine à traire. L'IMM chez la vache laitière a une conséquence économique car elle altère la qualité du lait produit. Ainsi le but d'un vaccin contre le *S. aureus* chez la vache laitière est la prévention d'une IMM car la maladie est contagieuse quoique infra-clinique.

Le vaccin le plus simple est un vaccin à germes entiers ou un lysat avec ou sans adjuvant. En médecine vétérinaire, un lysat de germes entiers pour la prévention des mastites bovines a été intensivement étudié. L'un de ces vaccins, Lysigin®, a été développé par Boehringer Ingelheim Vetmedica et est commercialisé aux Etats-Unis depuis le milieu des années 1970 chez la vache laitière. Ce vaccin est composé de polysaccharides capsulaires ('capsular polysaccharide' [CP]) de 5 souches de *S. aureus*: un sérotype 5, deux sérotypes 8 et deux sérotypes 336.

L'efficacité de Lysigin® a été évaluée dans de nombreuses études et les résultats montrent une réduction de la sévérité clinique des mastites, une augmentation des guérisons spontanées et, dans une étude, une réduction d'apparition de nouvelles IMM dans 2 des 3 troupeaux étudiés.

Le vaccin n'est donc pas pleinement efficace dans la prévention des IMM chez les vaches laitières. [12]

5.4 Vaccination et immunothérapie passive contre *S. aureus* chez l'homme

Le succès du développement d'un vaccin repose sur la connaissance du lien entre le pathogène et l'hôte or à ce jour cette interaction n'est pas complètement connue puisqu'un patient guéri d'une infection à *S. aureus* ne semble pas être protégé contre une réinfection à *S. aureus*. De plus *S. aureus* a développé diverses stratégies d'échappement immunitaire comme décrit ci-dessus (cf. chapitre 5.2).

A l'heure actuelle le National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) finance une étude pour comprendre les relations pathogène-hôte dans les infections à *S. aureus*. L'objectif principal de cette recherche est d'identifier des facteurs génétiques chez l'hôte qui pourraient contribuer à l'apparition ou à la sévérité des infections staphylococciques dans la communauté. Il est prévu d'inclure des patients par ailleurs sains, 100 présentant une infection invasive à staphylocoque et 50 présentant une infection récurrente à staphylocoque et d'obtenir des prélèvements sanguins de 150 sujets contrôle. [13]

Une question cruciale en matière de développement d'une immunothérapie est de définir la population à laquelle elle est destinée. L'approche d'une immunothérapie passive est plutôt indiquée pour des personnes ne pouvant répondre à la vaccination (immunodéprimés) ou à risque immédiat de contracter l'infection. L'approche active par vaccination est plutôt indiquée pour les personnes chez qui une intervention chirurgicale est programmée, hémodialysés, personnel militaire, détenus, athlètes, ... (se référer au Tableau 2).

Table 2
Target populations for a *Staphylococcus aureus* vaccine

Active immunisation	Passive immunisation
Haemodialysis patients	Patients undergoing emergency surgery
Residents of nursing homes and other long-term care facilities	Patients implanted with intravascular or prosthetic devices
Men who have sex with men	Trauma victims
Military personnel	Immunocompromised individuals
Prisoners	Low birthweight neonates
Patients undergoing elective surgery	Patients in intensive care units
Individuals with diabetes	
Patients with HIV	
Intravenous drug users	
Healthcare providers	
Athletes	
School children	

HIV, human immunodeficiency virus. [14]

5.4.1 Candidats vaccins étudiés chez l'homme

5.4.1.1 StaphVAX®

Plus de 90% des souches de *S. aureus* produisent des CP et 12 sérotypes ont été décrit dans la littérature: 1 à 11 et 336. Quatre d'entre eux (1, 2, 5 et 8) sont chimiquement connus. Les souches avec CP1 et CP2 sont rarement retrouvées en clinique. En revanche, les sérotypes 5 et 8 représentent 85% des isolats chez les patients et il a été montré que des anticorps contre les CP5 et CP8 pouvaient conférer une certaine protection chez l'animal. [6]

StaphVAX® est un vaccin bivalent combinant les CP5 et CP8 qui a été développé par Nabi Biopharmaceuticals dans le but de vacciner les sujets présentant un risque de contracter une infection à *S. aureus*. La première étude clinique de phase III a été conduite en 1998-1999 chez des patients dialysés en phase terminale pendant la période allant de 3 à 54 semaines après vaccination. Les patients étaient tous adultes (âge moyen de 58.3 ans) et ont été randomisés pour recevoir soit le vaccin (100 µg de CP5 et CP8) soit un placebo. En tout, 1804 patients ont été randomisés et 22% d'entre eux étaient des porteurs asymptomatiques de *S. aureus*. L'efficacité vaccinale a été évaluée en comptant les épisodes de bactériémie. [6]

Cette étude a montré une réduction de 57% ($p=0.02$) de l'incidence de la bactériémie sur la période allant de 3 à 40 semaines. Durant cette période, des bactériémies à *S. aureus* ont été rapportées par 11 des 892 patients vaccinés et par 26 des 906 patients affectés au groupe contrôle. Cependant sur l'ensemble de l'étude (semaine 54), la réduction des épisodes de bactériémie à *S. aureus* n'a été que de 26% ($p=0.23$).

En dépit de ce résultat, le développement du vaccin a été poursuivi et une étude clinique de phase III de grande envergure a été conduite chez 3600 patients hémodialysés chez qui la bactériémie a été étudiée pendant la période allant de 3 à 35 semaines après vaccination. Puis les patients ont été suivis pendant 6 mois supplémentaires après une dose de rappel. L'étude n'a pas montré de protection significative contre la bactériémie induite par le vaccin comparée au placebo. Nabi Biopharmaceuticals a attribué l'échec observé au mauvais état immunitaire de la population étudiée et à des problèmes de

production du vaccin. Cependant les données suggèrent qu'un vaccin contre *S. aureus* ne pourrait être efficace s'il est orienté exclusivement contre les CP5 et CP8. [14]

L'ajout du sérotype 336 dans un vaccin combinant des CP pourrait être une piste de développement au regard de sa prévalence dans les isolats cliniques de SARM en Allemagne qui le place en seconde position après le sérotype 5. [15]

5.4.1.2 Vaccin V710 (0657nl)

Dans de nombreux isolats cliniques de *S. aureus*, la protéine de membrane cellulaire IsdB est conservée et il a été démontré que cette protéine se retrouve dans un large panel de souches testées, tant méthicilline-résistantes que méthicilline-sensibles, et en provenance de différents lieux. Cette protéine se fixe à l'hémoglobine et cette interaction joue un rôle dans l'acquisition de l'hème par *S. aureus*. Des études chez des souris immunisées avec un IsdB recombinant ont montré une amélioration de la courbe de survie après administration intraveineuse de 5 ou 6 souches cliniques de *S. aureus*. La protection n'a pas été observée lorsqu'une souche mutante pour IsdB a été administrée à des animaux vaccinés au préalable démontrant ainsi la spécificité de la réponse protectrice.

V710 (dénommé précédemment 0657nl) est un vaccin constitué de la protéine IsdB qui a été développé par Merck. Ce vaccin est actuellement étudié en clinique en phase II dans la prévention des infections à *S. aureus* chez des patients hospitalisés pour chirurgie cardio-thoracique et chez des patients hémodialysés. [14, 16]

5.4.1.3 STEBVax

Un nouveau vaccin destiné à prévenir le syndrome du choc toxique est en phase I de développement clinique. L'étude sponsorisée par le NIAID n'a pas encore débutée. [17]

5.4.2 Immunothérapie passive étudiée chez l'homme

5.4.2.1 Veronate® et Aurexis®

ClfA est une frange de la membrane cellulaire qui permet à *S. aureus* de se lier au fibrinogène et facilite ainsi sa fixation à la surface du matériel biologique, caillots

sanguins, plaquettes et surfaces endothéliales endommagées. Des études chez la souris ont montré une réduction des arthrites et de la létalité induite par *S. aureus* mais la protection était dépendante de la souche.

Veronate®, INH-21, développé par Inhibitex, est un mélange d'immunoglobulines humaines préparé à partir de donneurs présentant des titres d'anticorps élevés contre les franges de *S. aureus* assurant la fixation au fibrinogène et à la fibrine (*S. aureus* ClfA et *S. epidermidis* SdrG). Des études chez les lapins ont montré une réduction significative des infections à *S. aureus* et *S. epidermidis* lorsque ces lapins ont été immunisés avec INH-21 puis infectés par un cathéter dans le but de provoquer une endocardite.

Une étude de phase II conduite en 2002-2003 chez des nouveau-nés prématurés a permis de montrer une incidence d'infection à *S. aureus* plus faible dans le groupe ayant reçu INH-21 à la dose la plus élevée (750 mg/kg) que dans celui ayant reçu un placebo (p=0.14). De plus, moins d'épisodes de candidaémie et une mortalité plus faible ont été observés chez les enfants ayant reçu 4 doses de INH-21 à la dose de 750 mg/kg que chez ceux ayant reçu le placebo.

Devant ces résultats prometteurs, une étude de phase III a été conduite chez près de 2000 nouveau-nés prématurés qui ont reçu soit 750 mg/kg de INH-21 soit un placebo. Malheureusement aucune différence significative n'a pu être mise en évidence ni pour l'incidence des infections retardée à *S. aureus* (6% versus 5% - p=0.34), ni pour la mortalité ni pour les infections retardées à SCN ou *Candida* spp. L'échec de cette préparation pourrait résider dans le fait que les immunoglobulines la constituant proviennent de sujets ayant été exposés de manière naturelle au staphylocoque et ainsi possiblement orientés contre d'autres épitopes de ClfA ou présentant une faible affinité ou avidité pour l'antigène.

Un autre produit développé par Inhibitex est une préparation monoclonale d'anti-ClfA humanisée (tefibazumab, Aurexis®). Une étude de phase II a été conduite chez des patients hospitalisés présentant une bactériémie à *S. aureus*. Ces patients ont reçu soit une dose de tefibazumab en plus du traitement standard soit le traitement standard uniquement. Dans le groupe ayant reçu du tefibazumab, 2 (6.7%) des 30 patients ont présenté un cas clinique répondant au critère de l'étude (rechute de la bactériémie,

complication liée à la bactériémie à *S. aureus* ou décès) comparé à 4 (13.3%) des 30 patients du groupe placebo ($p=0.455$). [14]

5.4.2.2 AltaStaph®

AltaStaph®, produit par Nabi Biopharmaceuticals, est un hypersérum immun constitué d'anticorps monoclonaux provenant de volontaires sains préalablement immunisés avec le vaccin bivalent StaphVAX® (cf. chapitre 5.3.1.1)

Des études de phase II ont été conduites chez des nouveau-nés à faible poids de naissance et chez des patients présentant une bactériémie à *S. aureus* avec fièvre persistante, sans succès. Ces résultats confirment le pressentiment que des anticorps dirigés contre CP5 et CP8 sont insuffisants pour réduire de manière significative les bactériémies à *S. aureus* chez les patients à risque. [14]

5.4.2.3 Aurograb®

NeuTec Pharma a identifié une protéine transporteuse de *S. aureus*, un 'ATP-binding cassette' (ABC), capable d'induire une réponse humorale (IgG) chez des patients guéris d'une septicémie ou de plaies infectées par un SARM. Devant des résultats pré-cliniques chez la souris encourageants, NeuTec Pharma a développé Aurograb® qui est un fragment variable monocaténaire d'anticorps contre le transporteur ABC de *S. aureus*. En 2006, une étude de phase III a été conduite, versus placebo, chez des patients traités par vancomycine pour une infection profonde à SARM. Les résultats n'ont pas été publiés. [14]

5.4.2.4 Pagibaximab®

L'acide lipotéichoïque est une glycoprotéine unique des bactéries Gram-positif. Biosynexus a développé un anticorps humanisé contre l'acide lipotéichoïque (Pagibaximab®, BSYX-A110). Ce produit est destiné aux enfants à faible poids de naissance en prévention des infections sanguines à *S. aureus* et SCN. Les résultats d'étude clinique de phase II sont encourageants. Pagibaximab® a été repris par GlaxoSmithKline puis par MedImmune. [14]

6 Conclusion

De nombreux vaccins contre *S. aureus* ont été étudiés et s'ils ont démontré leur capacité à induire une immunité humorale acceptable, la majorité d'entre eux n'a pas permis de prévenir l'infection au site anatomique étudié.

A ce jour, un seul vaccin est commercialisé: il s'agit d'un vaccin vétérinaire destiné aux vaches laitières dans la prévention des mastites à *S. aureus* et ce vaccin n'est pas uniformément efficace. Dans le développement d'un vaccin contre *S. aureus* chez l'homme les deux approches, vaccination et immunothérapie passive, doivent être poursuivies car elles ne sont pas mutuellement exclusives et probablement complémentaires.

Les défis au développement d'un vaccin contre *S. aureus* sont évidents. Notamment les premières victimes d'infections à *S. aureus* sont souvent immunodéprimées donc les moins susceptibles de répondre à un vaccin et la population de *S. aureus* est très diverse rendant difficile l'identification d'un ou de plusieurs antigènes suffisamment conservés dans la majorité des souches.

Beaucoup d'interrogations subsistent mais la plus importante est sans doute celle de comprendre comment un organisme commensal pour la plupart des être humains peut devenir pathogène pour certains d'entre eux. A l'heure actuelle cette question d'importance est sans réponse.

7 Références

- [1] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Commensalisme> accessed August 2009
- [2] van Belkum A, Verkaik NJ, de Vogel CP, Boelens HA, Verveer J, Nouwen JL, et al. Reclassification of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Types. JID 2009; 199:1820-6
- [3] Saadatian-Elahi M, Teyssou R, Vanhems P. *Staphylococcus aureus*, the major pathogen in orthopaedic and cardiac surgical site infections: a literature review. Int J Surg 2008;6(3):238-45.
- [4] Moreillon P, Que YA, Glauser MP. Chapter 192 - *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier; 2005. p. 2321-51.
- [5] <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/go/03b-00000j-0i1/presse/fiches-sur-les-maladies-infectieuses/staphylococcies> accessed August 2009
- [6] Daum RS. Chapter 57 - *Staphylococcus aureus* vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein, WA, Offit PA, editors. Vaccines, 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008. p. 1307-15.
- [7] Shinefield HR, Ruff NL. Staphylococcal infections: A historical Perspective. Infect Dis Clin N Am 23 (2009) 1-15
- [8] Thompson DS, Workman R, Strutt M. Decline in the rates of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition and bacteraemia in a general intensive care unit between 1996 and 2008. J Hosp Infect 2009;71(4):314-9.
- [9] Carlet J, Astagneau P, Brun-Buisson C, Coignard B, Salomon V, Tran B, et al. French national program for prevention of healthcare-associated infections and antimicrobial resistance, 1992-2008: positive trends, but perseverance needed. Infect Control Hosp Epidemiol 2009;30(8):737-45.
- [10] van Belkum A, Melles DC, Nouwen J, van Leeuwen WB, van Wamel W, Vos MC, et al. Co-evolutionary aspects of human colonisation and infection by *Staphylococcus aureus*. Infection, Genetics and Evolution 9 (2009) 32-47
- [11] DeLeo FR, Diep BA, Otto M. Host Defense and Pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections. Infect Dis Clin N Am 23 (2009) 17-34
- [12] Middleton JR. *Staphylococcus aureus* antigens and challenges in vaccine development. Expert Rev. Vaccines 7(6), 805-815 (2008)
- [13] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00911430?term=staphylococcus+vaccine&rank=13> accessed October 2009
- [14] Schaffer AC, Lee JC. Vaccination and passive immunisation against *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents 2008;32(suppl.1):S71-S78.
- [15] von Eiff C, Taylor KL, Mellmann A, Fattom AI, Friedrich AW, Peters G, et al. Distribution of capsular and surface polysaccharide serotypes of *Staphylococcus aureus*. Diagn Microbiol Infect Dis 2007;58(3):297-302
- [16] Kuklin NA, Clark DJ, Secore S, Cook J, Cope LD, McNeely T, et al. A novel *Staphylococcus aureus* vaccine: iron surface determinant B induces rapid antibody responses

in rhesus macaques and specific increased survival in a murine *S. aureus* sepsis model. *Infect Immun* 2006;74(4):2215-23.

[17] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00974935?term=staphylococcus+phase+I&rank=1>
accessed October 2009