



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Toxinas de *Staphylococcus aureus* associadas à contaminação de alimentos e de gado leiteiro - Revisão

Fabiano Costa Santiliano¹, Bethânia Ribeiro de Almeida², Mariana Drummond Costa Ignacchiti³, Olavo dos Santos Pereira Júnior⁴

¹. Mestre em Biociências e Biotecnologia. Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo – CCA-UFES, Alegre, Espírito Santo.

fabianosantiliano@yahoo.com.br

². Farmacêutica. Mestranda em Ciências Veterinárias. Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo – CCA-UFES, Alegre, Espírito Santo. bethanialmeida@yahoo.com.br

³. Pós-doutoranda no Programa de Ciências Veterinárias. Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo – CCA-UFES, Alegre. marianadci@gmail.com.

⁴. Professor Doutor do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo – CCA-UFES, Alegre, Espírito Santo. olavospjr@uol.com.br

Resumo

As enterotoxinas estafilocócicas (SEs) são proteínas que pertencem à categoria B de agentes de risco biológico, cuja exposição em humanos e animais de criação leva a intoxicação alimentar, estimulação de células T, imunossupressão e até morte. O risco de exposição à SEs está associado à sua

facilidade de disseminação em aerossóis, alimentos e água. Assim, devido ao impacto epidemiológico da exposição acidental ou intencional, o diagnóstico rápido e eficiente é muito importante para o tratamento das intoxicações por SEs

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, enterotoxinas, diagnóstico.

***Staphylococcus aureus* toxins associated with contamination of food and dairy cattle - Review**

Abstract

Staphylococcal enterotoxins (SEs) are proteins that belong to B category of biological risk agents, whose exposure in humans and pets leads to food poisoning, stimulation of T cells, immune suppression and death. The risk of exposure to SEs is associated with its ease dissemination in aerosol, food and water. Thus, due to the epidemiological impact of the accidental or intentional exposure, the development of fast and efficient diagnosis methods is very important for the treatment of poisoning by SEs.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, enterotoxins, diagnose

1. Introdução.

Staphylococcus aureus constituem a principal causa de infecções hospitalares, infecções de instrumentos cirúrgicos e infecções associadas a procedimentos médicos, sendo responsáveis por 35% dos óbitos (Lowy, 1998). Estão associadas a doenças provocadas por contaminação alimentar devido à liberação de enterotoxinas (SEs) nos alimentos e à síndrome do choque tóxico por liberação de superantígenos na corrente sanguínea (McCormick *et al.*, 2001).

Além de ser um problema de ordem de saúde pública, a presença das enterotoxinas resulta em perda econômica para o produtor de leite. Ainda, as enterotoxinas estão classificadas na Categoria B de agentes de risco biológico e são consideradas de fácil disseminação (Kaempfer *et al.*, 2002) e, se

distribuídas acidental ou intencionalmente na população, resultam em morbidade moderada e mortalidade baixa.

Os problemas associados às SEs alertam sobre a necessidade de rápida detecção em produtos de consumo humano, para que os tratamentos sejam providenciados antecipadamente a doença clínica.

2. *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus são bactérias Gram-positivas pertencentes à família Micrococcaceae, que inclui quatro gêneros: *Planococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus* e *Staphylococcus*. São imóveis, não esporulantes, anaeróbicas facultativas, que crescem por respiração aeróbica ou por fermentação produzindo principalmente ácido lático. São coagulase-positivos e são diferenciados do gênero *Streptococcus* por serem catalase-positivos. Conforme descrito em Issa e Thompson (2001, p.58), consistem em células esféricas com cerca de 1 µm de diâmetro que normalmente se agregam em cachos de uva formando colônias de coloração amarelo-ouro. Crescem em meios com concentrações de cloreto de sódio acima de 10%, em temperaturas entre 10°C e 45°C (ótima 30°C-37°C) e valores de pH entre 4,2 e 9,3 (pH ótimo 7,0-7,5). A parede celular é resistente a lisozima.

Normalmente estão associadas à colonização assintomática da pele, orofaringe e trato gastrointestinal e urogenital. No entanto, se as barreiras das mucosas forem rompidas ou ocorrer deficiência no sistema imunológico do hospedeiro, estes microorganismos podem causar elevada morbidade e mortalidade em humanos e outros animais (Bachert *et al.*, 2002). Originando desde lesões superficiais na pele como bolhas, abscessos, acne e furúnculos até doenças de maior gravidade como pneumonia, osteomielite, endocardite, miocardite, meningite, celulite bacteriana, queratite, infecções do trato urinário e septicemia.

A transmissão de *S. aureus* é frequentemente feita através de contato direto com um indivíduo infectado, embora possa ocorrer também por contato com aerossóis. Vários fatores que predisõem o hospedeiro a aumentar a

susceptibilidade à infecção por *S. aureus* têm sido identificados (Issa e Thompson, 2001). Estes incluem: injúria na pele ou membrana das mucosas, função leucocitária anormal, infecções virais (por exemplo, *influenza*), anormalidades metabólicas (por exemplo, diabetes mellitus e uremia), má nutrição, velhice (Bachert *et al.*, 2002). Recém-nascidos, vítimas de traumas, pacientes queimados, usuários de drogas endovenosas, pacientes com doenças crônicas de pele, diabéticos em uso regular de insulina e pacientes em hemodiálise são freqüentemente colonizados por grandes cargas bacterianas (Pedro e Branchini, 1997; Dinges *et al.*, 2000).

Também constituem a principal causa de infecções hospitalares, infecções de instrumentos cirúrgicos e infecções associadas a procedimentos médicos, sendo responsáveis por 35% dos óbitos (Lowy, 1998). Em indivíduos imunossuprimidos, tais como pacientes infectados pelo HIV, transplantados ou em tratamento quimioterápico, as infecções pelo *S. aureus* são as principais causas de complicações, com alto grau de morbidade e mortalidade. Estão associadas à doenças provocadas por contaminação alimentar devido à liberação de enterotoxinas nos alimentos e à síndrome do choque tóxico por liberação de superantígenos na corrente sanguínea (McCormick *et al.*, 2001).

2.1. Fatores de virulência.

Com o decorrer de sua evolução, *S. aureus* desenvolveu diversos fatores de virulência que atuam como mecanismos de evasão, garantindo proteção contra a resposta imune do hospedeiro (Balaban e Rasooly, 2000). Segundo Iwatsuki *et al.*, (2006 p.206) estes mecanismos são diversificados e incluem a inibição da quimiotaxia dos neutrófilos; produção de toxinas que atuam na membrana de leucócitos promovendo a sua lise; síntese de proteína A e microcápsula, que garantem a resistência à fagocitose; e, produtos carotenóides e algumas enzimas que neutralizam os mecanismos de morte dos fagossomos caso a bactéria seja internalizada.

Cepas de *S. aureus* expressam uma variedade de fatores de virulência que podem ser agrupados segundo seus mecanismos patogênicos como

proteínas que facilitam sua habilidade de colonizar e persistir no hospedeiro (Balaban e Rasooly, 2000). Estas proteínas, freqüentemente com propriedades enzimáticas ou citotóxicas, incluem várias hemolisinas ativas na membrana, nucleases, proteases, leucocidinas, lípases e collagenases. Coletivamente estas exoproteínas promovem a adesão bacteriana ou fornecem os nutrientes necessários ao desenvolvimento bacteriano (Lowy, 1998; Iwatsuki *et al.*, 2006).

2.2. Toxinas.

Toxinas são comumente substâncias, de origem protéica, produzidas por alguns microrganismos e que contribuem para sua patogenicidade. São classificadas em exotoxinas e endotoxinas (Koneman *et al.*, 2001). As exotoxinas são proteínas ou enzimas produzidas no interior de algumas bactérias Gram-positivas, decorrentes da multiplicação e metabolismo, dos microrganismos. Classicamente são agrupadas em três tipos, de acordo com seu modo de ação: citotoxinas, que destroem as células do hospedeiro ou afetam suas funções; neurotoxinas, que interferem com a transmissão normal de impulsos nervosos; e enterotoxinas, que afetam as células que revestem o trato gastrointestinal (Koneman *et al.*, 2001).

As endotoxinas correspondem à porção externa da parede celular (lipopolissacarídeos) das bactérias Gram-negativas, que são liberadas após a morte bacteriana ou mesmo a lise da parede celular (Koneman *et al.*, 2001).

2.2.1. Toxinas secretadas por *Staphylococcus aureus*.

Os estafilococos são responsáveis pela produção de potentes toxinas (Marrack e Kappler, 1990), que uma vez introduzidas no hospedeiro induzem uma variedade de conseqüências biológicas (Dinges *et al.*, 2000), atuando em três diferentes vias: como enterotoxinas, induzindo efeitos eméticos e diarreia em humanos e outros primatas; como exotoxinas implicadas na síndrome do choque tóxico; e como superantígenos gerando uma forte estimulação de células T V β específicas, seguida por anergia e apoptose destas células,

resultando em imunossupressão. Estas podem ter importante função em diversas patogenias devido à capacidade de estimular tanto células imunomodulatórias quanto pro inflamatórias efetoras (Kotb, 1998).

As estafilococcias humanas podem ser classificadas em duas categorias: as diretamente relacionadas à capacidade invasiva e as decorrentes da produção de toxinas. Dentre as toxinas identificadas neste gênero em *Staphylococcus aureus* estão:

Toxinas esfoliativas: As esfoliatinas ou toxinas epidermolíticas são produzidas por determinadas cepas de *S. aureus* e consistem em duas proteínas, denominadas ET-A e ET-B. Essas proteínas apresentam atividade proteolítica, clivando a epiderme, sendo responsáveis pelos sintomas da doença conhecida como Síndrome da Pele Escaldada (Lina *et al.*, 1997).

TSST-1: toxina isolada de pacientes com Síndrome do Choque Tóxico. Também é um superantígeno e está fortemente associada a casos de choque tóxico menstrual (McCormick *et al.*, 2001). A síndrome do choque tóxico foi associada por algum tempo com o uso de absorventes e com a presença de *S. aureus* localizados em colonizações cervicais e vaginais. TSST-1 é a única toxina capaz de atravessar superfícies de mucosa. Tem como manifestações clínicas febres acima de 39°C, descamação, hipotensão além de envolvimento dos sistemas gastrointestinal, muscular, mucoso, renal, hepático, hematológico e o sistema nervoso central. Sendo considerada um superantígeno, essa exotoxina estimula de 5-30% das células T (Dinges, 2000).

Enterotoxinas: proteínas secretadas por certas cepas de *S. aureus* e que atuam como superantígenos, promovendo superativação de células T e excessiva liberação de citocinas. Estão associadas a episódios de intoxicação alimentar e à Síndrome do Choque Tóxico (Balaban e Rasooly, 2000).

2.3. Patogenicidade.

As manifestações clínicas de muitas doenças estafilocócicas são quase exclusivamente devidas à ação de toxinas, enquanto que as outras doenças

são de origem inflamatória, devido à capacidade desses microrganismos invadirem e destruírem os tecidos (Cunha *et al*, 2002).

O uso indiscriminado de antibióticos, como a meticilina na década de 60, resultou na aquisição de resistência a este antibiótico. Muitas espécies resistentes a meticilina tornaram-se também resistentes a múltiplos antibióticos, causando um aumento da incidência de infecções hospitalares. Segundo Gould (2005, p. 1), a maioria dos casos relatados em diversos hospitais era de cepas resistentes à penicilina. Em 1981, 5% dos *S. aureus* eram resistentes à meticilina. Uma década depois este percentual aumentou para 38% e as estimativas de 2000 são de mais de 50% dos isolados resistentes a meticilina.

O aumento da incidência de infecções por estas bactérias pode ter sido atribuído a sua particular afinidade por materiais utilizados pela medicina moderna, tais como cateteres e outros instrumentos utilizados com procedimentos invasivos (Huebner e Goldmann, 1999). A adesão a estes materiais ocorre em poucos segundos e alcança seu ponto máximo em uma hora. Estudos *in vitro* indicam que a adesão inicial a polímeros é o resultado de uma interação entre as bactérias e irregularidades na superfície do material. Aparentemente os estafilococos coagulase-negativos podem aderir diretamente ou se ligar a uma proteína que revestiria a superfície do material (Vandecasteele *et al*, 2000).

2.4. Identificação laboratorial dos estafilococos.

A identificação é iniciada por bacterioscopia, utilizando amostras de Swabs de superfície, pus, sangue ou mesmo outras amostras clínicas. Estas amostras são coradas pelo método de Gram para observação de sua morfologia e coloração específica. As amostras são então semeadas em ágar-sangue, ou até outros meios seletivos, tais como Manitol Sal Ágar e Baird-Parker. Após a cultura, as amostras são testadas para catalase, no qual o peróxido de hidrogênio é colocado sobre cada cultura isoladamente. Esta prova

permite diferenciar a família *Micrococcaceae* de *Streptococcaceae* (Cunha *et al*, 2002).

Outro teste utilizado é a prova de oxidação e fermentação da glicose, conforme descrito por Cunha *et al* (2002, p. 281). Os estafilococos são fermentativos e não oxidativos, pois possuem anaerobiose facultativa, à diferença dos *Micrococcus*. A partir da prova da coagulase, dividem-se as espécies em dois grupos, coagulase-positivos ou coagulase-negativos. As espécies são identificadas por testes bioquímicos, com a utilização de açúcares: xilose, arabinose, sacarose, trealose, manitol, maltose, lactose, xylitol, ribose e frutose, bem como caracterização de hemolisinas, redução de nitrato, urease, ornitina, descarboxilase e resistência à novobiocina.

Em alguns exames microbiológicos para diagnóstico de mastite bovina, por exemplo, outros testes tais como produção de acetoina (teste VP) a partir de glicose ou piruvato é positiva para os *Staphylococcus aureus* e negativa para outras espécies coagulase-positivas, tais como *Staphylococcus intermedius* e *Staphylococcus hyicus* (Brito *et al*, 2002).

3. Enterotoxinas estafilocócicas.

As enterotoxinas são proteínas monoméricas de massa molecular variando de 22-30 kDa, não glicosiladas, e de longa vida média, que são secretadas e acumuladas durante a fase exponencial do crescimento *in vivo* e *in vitro* das diferentes cepas de *S. aureus* enterotoxigênicas (Balaban e Rasooly, 2000). São ricas em lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico e tirosina (Proft e Fraser, 2003). Possuem uma ligação dissulfídica em sua conformação que provavelmente estaria envolvida na atividade emética (Marrack e Kappler, 1990). São altamente estáveis, resistem a muitas enzimas proteolíticas como pepsina e tripsina explicando sua atividade no sistema digestivo, e são altamente resistentes ao calor (Le Loir *et al.*, 2003). Essas proteínas, também conhecidas como toxinas pirogênicas, em quantidades na ordem de microgramas (3,5 - 150 µg, dependendo da sensibilidade da espécie e do indivíduo) estão relacionadas a episódios de intoxicações alimentares (Balaban

e Rasooly, 2000) após a ingestão de alimento contaminado, e conforme descrito em Giletto e Fyffe (1998, p.2220) afetam cerca de 1,2 milhões de pessoas anualmente, resultando numa perda econômica de cerca de 1,5 bilhões de dólares.

Em temperaturas inferiores a 60°C, muitas cepas produzem enterotoxinas, que uma vez entrando no intestino do hospedeiro, tem a habilidade de cruzar a parede intestinal e ganhar acesso ao sistema imune (Shupp *et al.*, 2002). Após 4 h de ingestão, estas toxinas interagem com vários alvos celulares desencadeando reações biológicas e fisiológicas que conduzem às manifestações clínicas características da intoxicação: náuseas, dores abdominais, diarreia e vômito (Balaban e Rasooly, 2000; Dinges *et al.*, 2000). Os sintomas geralmente desaparecem 24 h após a infecção, porém, óbitos entre neonatos e idosos não são raros (Medina-Acosta *et al.*, 2005).

As enterotoxinas exibem semelhanças tanto nas suas múltiplas atividades biológicas quanto nas suas seqüências peptídicas (Balaban e Rasooly, 2000). Distinguem-se, todavia, umas das outras, pela presença de epítomos específicos. Assim sendo, as diferentes cepas enterotoxigênicas podem expressar toxinas antigenicamente distintas com atividades biológicas similares.

S. aureus secreta diversas enterotoxinas (SEs) com múltiplos sorotipos SEA, SEB, SEC₁₋₃, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEQ, SER e SET (Freiras *et al.*, 2004; Medina-Acosta *et al.*, 2005).

Apresentam similaridades estruturais, funcionais e na seqüência e são filogeneticamente relacionadas (Balaban e Rasooly, 2000). Embora as toxinas pirogênicas estejam envolvidas em diferentes patologias, elas exibem semelhanças nas suas atividades biológicas de superantigenicidade e enterotoxigenicidade (Le Loir *et al.*, 2003). Harris *et al.* (1993, p. 3176) propuseram que existe uma relação entre a atividade superantigênica e enterotoxigênica das toxinas, e na maioria dos casos, a perda da atividade superantigênica resulta na perda de enterotoxigenicidade. Porém, foi demonstrado que essas duas atividades estão localizadas em domínios

separados da molécula. Isso quer dizer que, o fato de a proteína ser superantigênica não significa que ela seja enterotoxigênica.

A superantigenicidade está relacionada com a capacidade da proteína estimular inespecificamente a proliferação de células T (Proft e Fraser, 2003), enquanto que a enterotoxigenicidade e o efeito emético estão relacionados com a estimulação do sistema nervoso central, após atuação da toxina sobre os receptores neurais no intestino (Le Loir *et al.*, 2003). Os efeitos eméticos mais comuns são: náuseas, vômitos, dores abdominais, prostração e diarreias. Os primeiros acontecem de duas a seis horas após a atuação da toxina sobre os receptores neurais no intestino. O último ocorre devido ao aumento do peristaltismo intestinal e perda de líquido pelo organismo (Balaban e Rasooly, 2000).

Os superantígenos têm a capacidade de interagir com o receptor de células T (TCR) de maneira não específica, através de interação com a porção V β do TCR e ligação cruzada entre este receptor e as moléculas de MHC de classe II na superfície das APCs (McCormick *et al.*, 2003) (Figura 2), formando um complexo trimolecular que atua como potente ativador podendo estimular de 5 a 30% da população de células T (Issa e Thompson, 2001).

A ação dos superantígenos induz a produção e liberação de níveis elevados de IL-12 (Takahashi *et al.*, 1995). Normalmente a IL-12 atua localmente, mas a produção em excesso faz com que esta atinja a corrente sanguínea, gerando uma série de sintomas que incluem náusea, vômito, indisposição e febre. A grande estimulação da proliferação de células T e produção de IL-1 também gera um aumento na produção de IL-10, IFN- γ e TNF- α , (Takahashi *et al.*, 1995).

Como as duas atividades das SEs estão interligadas ainda é pouco conhecido. O mecanismo responsável pela resposta emética poderia ser mediado pelo sistema imune na qual a estimulação de células T está associada à elevada produção de citocinas (Proft e Fraser, 2003). Os sintomas de contaminação alimentar podem ser mimetizados pela administração de IL-2 exógena (Johnson *et al.*, 1992). Acredita-se que a atividade emética possa

facilitar a transcitose, permitindo a sua entrada na corrente sangüínea e interação com as células T levando à atividade superantigênica (Hamad *et al.*, 1997; Balaban e Rasooly, 2000).

S. aureus estão presentes em 30% da população mundial. Este alto percentual pode ser um fator de prevalência de contaminação em alimentos. Condições de higiene inadequadas, temperatura ideal e condições impróprias durante a fabricação, são implicadas como a etiologia primária dos casos de contaminação alimentar (Le Loir *et al.*, 2003).

4. Associação entre *Staphylococcus aureus* e contaminação de gados leiteiros.

Considerada uma doença multifatorial de grande importância para a pecuária de leite, a mastite acarreta sérios prejuízos econômicos decorrentes da diminuição da secreção láctea, ou da perda total desta capacidade, além de representar importante problema de Saúde Pública (Jones e Wieneke, 1998). O leite proveniente de fêmeas infectadas apresenta modificação em sua composição, alterando conseqüentemente suas características organolépticas, físicas, químicas e microbiológicas. Sob o ponto de vista econômico, a mastite é a mais importante enfermidade do gado leiteiro, apresentando alta prevalência em todo o mundo, acometendo não só os bovinos, como também os caprinos, ovinos e bubalinos (Sa *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2007). Agravando o problema, a enfermidade se apresenta também sob a forma subclínica, sendo esta mais prejudicial pela ausência de sinais ou sintomas. As perdas na produção de leite atribuídas à mastite subclínica alcançam de 10 a 26% do total de produção, de acordo com grau de intensidade do processo inflamatório, da prevalência da doença, da patogenicidade do agente infeccioso e do estágio de lactação (Akineden *et al.*, 2001).

Atualmente *S. aureus* é considerado o principal organismo patogênico, mais freqüente isolado especialmente de mastite subclínica contagiosa (Contreras *et al.*, 1999). A doença é extremamente difícil de ser controlada apenas por tratamento. O sucesso no controle é conseguido por prevenção de

novos focos infecciosos (Jones e Wieneke, 1998). A infecção por *S. aureus* pode se espalhar para outros animais através das mãos e roupas do ordenhador, aparelhos utilizados na ordenha ou através de insetos, caracterizando seu aspecto contagioso. A bactéria ao penetrar no canal da teta produz toxinas que destroem a membrana das células, gerando inflamação e recrutamento de leucócitos para o foco infeccioso que podem diretamente danificar os tecidos produtores de leite (Freiras *et al.*, 2004). O patógeno estabelece microabscessos no interior da glândula, que os protegem do sistema imune do animal e do tratamento terapêutico (Ferens *et al.*, 1998).

TSST-1 e enterotoxinas freqüentemente têm sido detectadas em diversos isolados de leite provenientes de gado bovino e bubalino apresentando mastite (Takeuchi *et al.*, 1998; Akineden *et al.*, 2001), resultando em grandes perdas econômicas para os produtores além de colocarem os consumidores em alto risco, através de intoxicações (Balaban e Rasooly, 2000). Dentre estas, têm maior relevância nos casos de mastite bovina, as linhagens de *S. aureus* que apresentam os genes para as toxinas SEC e TSST-1, pois estas são as cepas associadas com severos casos de mastite clínica ou casos que não respondem à terapia com antibióticos (Zschöck *et al.*, 2004).

SEC produz uma resposta inflamatória de maior intensidade nas glândulas mamárias do que TSST-1 (Kuroishi *et al.*, 2003), sendo encontrada em maior concentração na fase de mastite aguda. Nesta fase, o título de anticorpos anti-TSST-1 eram mais altos do que os de anti-SEC. Estes anticorpos neutralizariam a resposta inflamatória na glândula mamária.

A associação dos genes *sec* e *tst* em linhagens de *S. aureus* isoladas de casos de mastite também foi observada na Alemanha havendo, segundo alguns trabalhos, uma variação geográfica de linhagens de *S. aureus* enterotoxigênicos (Salasia *et al.*, 2004; Larsen *et al.*, 2002).

Alguns autores relataram que isolados de *S. aureus* provenientes de secreções de glândula mamária de animais com mastite produziam predominantemente SEC e TSST-1 (Takeuchi *et al.*, 1998; Kuroishi *et al.*, 2003).

SANTILIANO, F.C. et al. Toxinas de *Staphylococcus aureus* associadas à contaminação de alimentos e de gado leiteiro – Revisão. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 25, Ed. 130, Art. 884, 2010.

Na Alemanha há relato de predominância dos genes recentemente descritos para SEG, SEI e SEJ em isolados de gado com mastite bovina ao lado de SEC, SED e TSST-1 (Akineden *et al.*, 2001). Na Espanha, o predomínio é de cepas secretando SEB e TSST-1 juntamente com SEC (Fueyo *et al.*, 2005). Cardoso *et al.*, 1999 estudando animais com mastite bovina no Brasil relataram a predominância de SED e TSST-1. Esta variação poderia ser causada por diferenças entre as cepas e fontes de *S. aureus* (Kenny *et al.*, 1993). Recentemente no Brasil isolou-se *S. aureus* secretor de SEC e TSST-1 em búfalas apresentando mastite subclínica (Ferreira *et al.*, 2007).

5. Referências Bibliográficas.

Akineden, O., Annemuller, C., Hassan, A.A., Lammler, C., Wolter, W., Zschock, M. (2001) Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 8:959-964.

Bachert, C., Gevaert, P., Van Cauwenberge, P. (2002) *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a key in airway disease? *Allergy* 57:480-487.

Balaban, N., Rasooly, A. (2000) Staphylococcal enterotoxins. *Int. J. Food Microbiol.* 61:1-10.

Beck, H. S.; Wise, W. S.; Dodd, F. H. (1992) Cost benefit analysis of bovine mastitis in the UK. *J. Dairy Res.* 59: 449-60.

Brito, M.A.V.; Campos, G.M.M e Brito J.R.F. (2002) Esquema simplificado para identificação de estafilococos coagulase-positivos isolados de mastite bovina. *Ciência Rural, Santa Maria* 32: 79-82.

Contreras, A., Paape, M.J., Miller, R.H. (1999) Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herd. *Small Rumin. Res.* 31:203-208.

Cunha, M.L.R.S.; Lopes C.A.M.; Rugolo L.M.S.S. (2002) Significância clínica de estafilococos coagulase-negativa isolados de recém-nascidos. *Jornal de Pediatria* 78: 279-288.

Dinges, M.M., Orwin, P.M., Schlievert, P.M. (2000) Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13:16-34.

Ferens, W.A., Golf, W.L., Davis, W.C., Fox, L., Deobald, C.F., Hamilton, M.J., Bohach, G. (1998) Induction of type 2 cytokines by a staphylococcal enterotoxin superantigen. *J. Nat. Toxins* 7:193-213.

Ferreira, G.S., Bonna, I.C.F., Carmo, L.S., Petrucci, M.P., Almeida, C.M.C., Vieira-da-Mota, O. (2007) Development of IgY antibodies against superantigens of *Staphylococcus aureus* isolated from milk of buffalo herds in Rio de Janeiro State. *Rev. Univ. Rural* 27:598-600.

SANTILIANO, F.C. et al. Toxinas de *Staphylococcus aureus* associadas à contaminação de alimentos e de gado leiteiro – Revisão. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 25, Ed. 130, Art. 884, 2010.

Freiras, M.F.L., Leal Balbino, T.C., Mota, R.A., Stamford, T.L.M. (2004) Exotoxinas estafilocócicas. *Vet. Trop.* 7:63-74.

Fueyo, J.M., Mendoza, M.C., Martín, M.C. (2005) Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. *Mic. Infect.* 7:187-194.

Glokler, J.; Angenent, P. (2003) Protein and microarray technology. *J. Chromatogr.* 797: 229-240.

Gould, I.M. (2005) The clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* In Press, 1-6.

Harris, T.O., Grossman, D., Kappler, J.W., Marrack, P., Rich, R.R., Betley, M.J. (1993) Lack of complete correlation between emetic and T-cell-stimulatory activities of staphylococcal enterotoxins. *Infect. Immun.* 61:3175-3183.

Huebner, J., Goldmann D.A. (1999) Coagulase-negative Staphylococci: role as pathogens. *Annual Reviews of Medicine* 50: 223-236.

Issa, N.C., Thompson, R.L. (2001) Staphylococcal toxic shock syndrome. *Postgrad. Med.* 110(4):55-62.

Iwatsuki, K., Yamasaki, O., Morizane, S., Oono, T. (2006) Staphylococcal cutaneous infections: Invasion, evasion and aggression. *J. Dermat. Sci.* 42:203-214.

Jones, T.O., Wieneke, A.A. (1998) Staphylococcal toxic shock syndrome. *Vet. Rec.* 25:435-436.

Kaempfer, R.; Arad, G.; Levy, R.; Hillman, D. (2002) Defense against biologic warfare with superantigen toxins. *Isr. Med. Assoc. J.* 4: 520-523.

Kenny, K., Reiser, R.F., Bastida-Corcucra, F.D., Norcross, N.L. (1993) Production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin by bovine mammary isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 31:706-707.

Koneman, F.W., Allen, S.D., Janda, S.P.C. (2001) Cocos Gram-Positivos: Parte I: Estafilococos e Microrganismos Relacionados, pp.551-588. Diagnóstico Microbiológico. 5º Edição. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

Kotb, M. (1998) Superantigens of Gram-positive bacteria: structure-function analyses and their implications for biological activity. *Curr. Opin. Microbiol.* 1:56-65.

Kuroishi, T., Komine, K., Kai, K., Itagaki, M., Kobayashi, J., Ohta, M., Kamata, S., Kumagai, K. (2003) Concentrations and specific antibodies to staphylococcal enterotoxin-C and toxic shock syndrome toxin-1 in bovine mammary gland secretions, and inflammatory response to the intramammary inoculation of these toxins. *J. Vet. Med. Sci.* 65(8):899-906.

Larsen, H.D., Aarestrup, F.M., Jensen, N.E. (2002) Geographical variation in the presence of genes encoding superantigenic exotoxins and β -hemolysin among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and USA. *Vet. Microbiol.* 85:61-67.

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

SANTILIANO, F.C. et al. Toxinas de *Staphylococcus aureus* associadas à contaminação de alimentos e de gado leiteiro – Revisão. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 25, Ed. 130, Art. 884, 2010.

Lina, G., Gillet, Y., Vandenesch, F., Jones, M., Floret, D., Etienne, J. (1997) Toxin involvement in staphylococcal scalded skin syndrome. *Clin. Infect. Dis.* 25:1369-1373.

Lowy, M.D. (1998) *Staphylococcus aureus* infections. *New Engl. J. Med.* 339:520-532.

Mantis, N. J. (2005) Vaccines against the category B toxins: staphylococcal enterotoxin B, epsilon toxin and ricin. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57: 1424- 1439.

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

McCormick, J.K., Yarwood, J.M., Schlievert, P.M. (2001) Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update. *Ann. Rev. Microbiol.* 55:77-104.

McCormick, J.K., Tripp, T.J., Llera, A.S., Sundberg, E.J., Dinges, M.M., Mariuzza, R.A., Schlievert, P.M. (2003) Functional analysis of the TCR binding domain of toxic shock syndrome toxin-1 predicts further diversity in MHC class II/superantigen/TCR ternary complexes. *J. Immunol.* 171:1385-1392.

Medina-Acosta, E., Fernandes, R.C.S.C., Ribeiro, P.D. (2005) Novas estratégias de tratamento das estafilococcias. *Rev. Bras. Med.* 62:27-31.

Proft, T., Fraser, J.D. (2003) Bacterial Superantigens. *Clin. Exp. Immunol.* 133:299-306.

Sá, M.E.P., Cunha, M.L.R.S., Elias, A.O., Langoni, H. (2004) Importance of *Staphylococcus aureus* in bovine subclinical mastitis: presence of enterotoxins, shock syndrome toxin and relationship with somatic cell count. *Braz. J. Vet. Res. Animal Sci.* 41:320-326.

Salasia, S.I.O., Khusnan, Z., Lämmler, C. (2004) Comparative studies on pheno- and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Java in Indonesia and Hesse en Germany. *J. Vet. Sci.* 5:103-109.

Shupp, J.W., Jett, M., Pontzer, C.H. (2002) Identification of a transcytosis epitope on staphylococcal enterotoxins. *Infect. Immun.* 70:2178-2186.

Takahashi, I., Nakagawa, I., Xu, L., Hamada, S. (1995) IL-12 rescues galactosamine-loaded mice from lethal shock triggered by *Staphylococcal* enterotoxin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 217(1):74-80.

Takeuchi, S., Ishiguro, K., Ikegami, M., Kaidosh, T., Hayakawa, Y. (1998) Production of toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cow's milk and farm bulk milk. *Vet. Microbiol.* 59:251-258.

Vandecasteele, S.J.; Wijngaerden, V.E.; Van Eldere J. (2000) New insights in the pathogenesis of foreign body infections with coagulase negative staphylococci. *Acta Clinica Belgica* 55: 148-153.

Zschöck, M., Ribe, K., Sommerhäuser, J. (2004) Occurrence and clonal relatedness of *sec/tst*-gene positive *Staphylococcus aureus* isolates of quartermilk samples of cows suffering from mastitis. *Let. App. Microbiol.* 38:493-498.