

Comunicação

[Communication]

Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico por cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas na mastite bovina

[Production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis]

A. Nader Filho^{1*}, L.M. Ferreira², L.A. Amaral¹, O.D. Rossi Junior¹, R.P. Oliveira¹

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/nº
14884-900 – Jaboticabal, SP

²Aluno de pós-graduação - FCAV-UNESP – Jaboticabal, SP

Staphylococcus aureus está envolvido em infecções intramamárias de fêmeas em lactação, sendo o principal agente causador da mastite em bovinos (Cardoso et al., 2000). Algumas cepas desse microrganismo podem produzir uma grande variedade de toxinas extracelulares e de fatores de virulência (Matsunaga et al., 1993), cuja presença no leite e seus derivados pode representar sério problema de saúde pública (Ichikawa et al., 1996).

Enterotoxinas estafilocócicas (SE) são os principais agentes de intoxicação de origem bacteriana no homem e têm sido relatadas em vários surtos de doenças transmissíveis por alimentos (Lamaita et al., 2005).

As toxinas são termoestáveis (Cliver, 1994) e o período de incubação é bastante curto, variando de 15 minutos a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado (Carmo, 2001). Segundo Bergdoll (1989), uma mesma cepa de *S. aureus* pode produzir mais de um tipo de toxina, que em quantidades inferiores a 1µg podem desencadear os sintomas de intoxicação, representados, principalmente por vômitos e diarreias. Casos mais graves podem ocorrer entre os recém-nascidos, idosos e pessoas acometidas por doenças crônicas imunossupressoras (Cliver, 1994).

Outro fator de virulência é representado pela toxina 1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1)

sendo reconhecida como causadora febre, hipotensão, congestão de vários órgãos e choque letal (Bergdoll e Chesney, 1991).

Tendo em vista a importância dos *S. aureus* como agentes etiológicos da mastite bovina, considerando os riscos que o leite contaminado por estes microrganismos pode representar para a saúde pública, idealizou-se o presente trabalho com o objetivo de verificar a produção de SE e da TSST-1. Para tanto, foram utilizadas 72 cepas de *S. aureus* isoladas no leite de vacas com sinais de mastite ou que apresentavam positividade no California Mastitis Test, em 10 propriedades rurais do Estado de São Paulo.

A detecção das SE e da TSST1 foi realizada pela equipe do doutor Luiz Simeão do Carmo, do laboratório de enterotoxinas estafilocócicas da Fundação Ezequiel Dias, que utilizou o método de placa de sensibilidade ótima (optimum-sensitivity plate method - OSP) descrito por Robbins et al. (1974).

Na Tab. 1 mostra-se que das 72 cepas de *S. aureus* estudadas, 66 (91,7%) apresentaram produção de pelo menos um tipo de toxina, isoladamente ou em associação, evidenciando, portanto, elevado grau de toxigenicidade. Revela, também, que 12 (16,7%) produziram apenas um tipo de toxina, enquanto 10 (13,9%) produziram, simultaneamente, até quatro SE, e que apenas seis (8,3%) mostraram-se negativas na produção das toxinas SEA, SEB, SEC, SED e TSST-1.

Produção de enterotoxinas e da toxina...

A Fig.1 apresenta a distribuição da produção das SE e da TSST-1 entre as 72 cepas de *S. aureus* estudadas, isoladamente, desprezando-se as associações. As toxinas SEA (52,8%) e SEB (52,8%) foram as mais produzidas, seguidas por SED (44,4%), SEC (38,9%) e TSST-1 (37,5%).

Entre as toxinas identificadas, houve predomínio da SEA e SEB em relação às outras toxinas estafilocócicas. Este resultado difere dos obtidos por Lopes et al. (1990), em São Paulo, por Cardoso et al. (2000), em Minas Gerais, e por Sá et al. (2004), em São Paulo, que verificaram maior ocorrência da SEA e SEC, TSST-1 e SED e da SEC e SED, respectivamente. Cardoso et al. (2000) acreditam que as diferenças observadas nas frequências e nos tipos de toxinas extracelulares talvez possam ser atribuídas aos métodos de detecção das toxinas e as características das cepas de *S. aureus* isoladas de diversas origens.

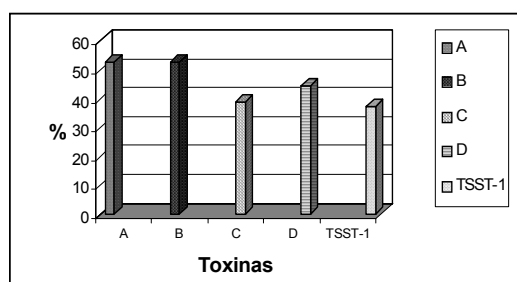


Figura 1. Distribuição da produção das toxinas estafilocócicas em 72 cepas de *S. aureus* isoladas em casos de mastite bovina diagnosticados em 10 propriedades rurais do Estado de São Paulo, 2002.

Com relação à TSST-1, deve-se ressaltar que essa toxina ganhou notoriedade por ser detectada com frequência nos casos de mastite bovina, ovina e caprina (Jones e Wieneke, 1986; Matsunaga et al., 1993; Bezek e Hull, 1995). O primeiro relato de detecção da TSST-1 produzida por *S. aureus* de origem animal no Brasil é atribuído a Cardoso et al. (2000), que verificaram a produção dessa toxina em 47,2% das cepas isoladas de casos de mastite bovina em Minas Gerais. A frequência (37,5%) de isolamento de cepas de *S. aureus* produtoras de TSST-1 observada neste trabalho (Fig. 1) foi menor que a obtida por Cardoso et al. (2000). Sá et al. (2004) não identificaram a ocorrência de cepas produtoras dessa toxina nos casos de mastite estudados na região de Botucatu/SP.

Tabela 1. Produção de enterotoxinas estafilocócicas (SE) e de toxina da síndrome do choque tóxico (TSST-1) pelas cepas de *S. aureus* isoladas em casos de mastite bovina diagnosticados em 10 propriedades rurais do Estado de São Paulo, 2002

Enterotoxina estafilocócica (SE)	Número de cepas	%
SEA	2	2,8
SEB	5	6,9
SEC	5	6,9
SEA + SEB	1	1,4
SEB + SEC	17	23,6
SEA + TSST-1	3	4,2
SEA + SEB + SED	4	5,6
SEA + SEC + SED	2	2,8
SEA + SED + TSST-1	16	22,2
SEB + SEC + TSST-1	1	1,4
SEA + SEB + SEC + SED	3	4,2
SEA + SEB + SED + TSST-1	7	9,7
Nenhuma	6	8,3
Total	72	100,0

A mesma cepa de *S. aureus* pode produzir mais de um tipo de enterotoxina, como observado neste trabalho (Tab. 1). Achados semelhantes foram relatados por Cardoso et al. (2000) em Minas Gerais, a exemplo dos observados por alguns autores em outras regiões do mundo (Jones e Wieneke, 1986; Matsunaga et al., 1993; Ichikawa et al., 1996; Takeuchi et al., 1998). Embora Soares et al. (1997) tenham assinalado que a co-produção de diferentes tipos de toxinas possa sugerir maior toxigenicidade dessas cepas na patogenia das infecções produzidas por esses microrganismos, e Refai et al. (1988) tenham demonstrado a relação existente entre a atividade enzimática específica, a enterotoxigenicidade e a resistência dos *S. aureus* a vários antibióticos, principalmente naquelas produtoras de mais de um tipo de enterotoxina, os autores citados não discutiram a importância desse resultado.

Embora sejam variáveis as frequências de isolamento de cepas de *S. aureus* em amostras de leite de vacas com mastite, esse agente pode ser considerado mundialmente como o de maior significado na etiologia dessa enfermidade (Sá et al., 2004). Este fato, aliado ao elevado índice de cepas enterotoxigênicas, como o verificado nesta investigação, deve merecer especial atenção dos órgãos oficiais de inspeção e de vigilância sanitária, uma vez que pode representar sério

risco potencial para a saúde pública (Lamaita et al., 2005).

Apesar da simples presença das cepas de *S. aureus* enterotoxigênicas não implicar necessariamente na ocorrência de casos intoxicações, sabe-se que o leite constitui em excelente substrato para a proliferação desses microrganismos e que a temperatura da glândula mamária é ideal para a produção de enterotoxinas em concentrações suficientes para causar a doença no homem.

Os achados deste trabalho adquirem uma importância ainda maior principalmente se considerar a termoestabilidade das enterotoxinas estafilocócicas pré-formadas e a conseqüente possibilidade da sua persistência tanto no leite pasteurizado como em seus derivados.

Palavras-chave: bovino, mastite, *Staphylococcus aureus*, enterotoxinas

ABSTRACT

A total of 72 strains of Staphylococcus aureus were examined for the production of staphylococcal enterotoxins (SE) A, B, C, D and toxic shock syndrome toxin (TSST-1). The strains were isolated from milk samples from cows with mastitis in dairy herds of São Paulo State, Brazil. Of 72 isolates, 38 (52.8%) produced SEA, 38 (52.8%) SEB, 32 (44.4%) SED, 28 (38.9%) SEC and 27 (37.5%) TSST-1. From the 72 strains, 66 (91.7%) produced, at least, one or more toxin, including TSST-1.

Keywords: bovine, mastitis, Staphylococcus aureus, enterotoxins, TSST-1

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGDOLL, M.S. *Staphylococcus aureus*. In: *Foodborne bacterial pathogens*. New York: Marcel Dekker, 1989. p.463-523.
- BERGDOLL, M.S.; CHESNEY, P.J. (Eds). *Toxic shock syndrome*. Boston: CRC, 1991. 235p.
- BEZEK, D.M.; HULL, B.L. Peracute gangrenous mastitis and cheilitis associated with enterotoxin-secreting *Staphylococcus aureus* in a goat. *Can. Vet. J.*, v.36, p.106-107, 1995.
- CARDOSO, H.F.T.; CARMO, L.S.; SILVA, N. Detecção da toxina-1 da síndrome do choque tóxico em amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.52, p.7-10, 2000.
- CARMO, L.S. *Produção e purificação em grande escala das enterotoxinas estafilocócicas SEA, SEB, SEC, SED e TSST-1 para uso em ensaios imuno-enzimáticos*. 2001. 254f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CLIVER, D.O. (Ed). *Foodborne disease handbook: diseases caused by bacteria*. New York: Marcel Dekker, 1994. 613p.
- ICHIKAWA, M.; ICHIKAWA, T.; MIZOMOTO, T. Productivity of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin-1, and coagulase type of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovines and humans in the same district. *Anim. Sci. Technol.*, v.67, p.780-786, 1996.
- JONES, T.O.; WIENEKE, A.A. Staphylococcal toxic shock syndrome. *Vet. Rec.*, v.119, p.435, 1986.
- LAMAITA, H.C.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; CARMO, L.S. et al. *Staphylococcus* sp. counting and detection of staphylococcal enterotoxins and toxic shock toxin syndrome from cooled raw milk. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.57, p.702-709, 2005.
- LOPES, C.A.M.; MORENO, G.; CURI, P.R. et al. Characteristics of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Brasil. *Br. Vet. J.*, v.146, p.443-446, 1990.
- MATSUNAGA, T.; KAMATA, S.; KIKIICHI, N. et al. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute, acute and chronic bovine mastitis. *J. Med. Sci.*, v.55, p.297-300, 1993.
- QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B. et al. (Eds). *Clinical veterinary microbiology*, London: Wolfe, 1994. 648 p.
- REFAI, M.; NIAZI, Z.M., YOUSSEF, S.A.H. et al. Correlation between antibiotic-resistance, enterotoxigenicity and enzymatic activities of *Staphylococcus aureus* recovered from foods. *Vet. Med. J.*, v.36, p.107-119, 1988.
- ROBBINS, R.; GOULD, S.; BERGDOLL, M.S. Detecting the enterogenicity of *Staphylococcus aureus* strains. *Appl. Microbiol.*, v.28, p.946-950, 1974.
- SÁ, M.E.P.; CUNHA, M.S.R.S.; ELIAS, A.O. et al. Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.41, p.321-326, 2004.
- SOARES, M.J.S.; TOKUMARU-MIYAZAKI, N.H.; NOLETO, A.L.S. Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* clones and detection of Brazilian epidemic MRSA clone (III::B:A) among isolates from food handlers. *J. Med. Microbiol.*, v.46, p.214-221, 1997.
- TAKEUCHI, S.; ISHIGURO, K.; IKEGAMI, M. et al. Production of toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cow's milk and farm bulk milk. *Vet. Microbiol.*, v.59, p.251-258, 1998.