

ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

TEREZA CRISTINA ROCHA MOREIRA DE OLIVEIRA¹
MARIA DE LOURDES RIBEIRO DE SOUZA DA CUNHA²
ELISA YOKO HIROOKA³

OLIVEIRA, T.C.R.M. ; CUNHA, M.L.R.S. ; HIROOKA, E.Y. Enterotoxinas estafilocócicas. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v.16, n.1, p. 178-187, mar. 1995.

RESUMO: Intoxicação estafilocócica, causada por enterotoxinas produzidas por espécies de *Staphylococcus*, tem sido um problema constante em Saúde Pública, em vista da freqüência dos casos e da termoestabilidade das toxinas. Considerando que este microrganismo é um dos agentes mais freqüentes na microbiota humana e animal, apresenta-se uma breve revisão sobre as características estruturais, propriedades físico-químicas e biológicas das enterotoxinas estafilocócicas, assim como fatores que afetam a sua produção em alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: enterotoxina; estafilococos; intoxicação.

1 - INTOXICAÇÃO ESTAFILOCÓCICA

Os estafilococos são os agentes mais comuns de toxinfecção alimentar desde a antiguidade, embora notificações da doença sejam relativamente recentes (NISKANEN, 1977; BERGDOLL, 1979).

A primeira toxinfecção estafilocócica foi relatada por LAUGHN em 1884 (apud MINOR & MARTH, 1971), quando descreveu um surto com queijo tipo "cheddar" envolvendo 300 indivíduos em Michigan, EUA, no mesmo ano em que ROSENBAACH descreveu o gênero *Staphylococcus* (MINOR & MARTH, 1971).

BARBER (citado por BAIRD-PARKER, 1990) relacionou intoxicação com uma substância tóxica produzida por estafilococos isolados de leite mastítico, e DACK, *et al.* (citado por BERGDOLL, 1979) reproduziram a sintomatologia em voluntários humanos, após a ingestão de filtrados estéreis de cultura. JORDAN *et al.* (1931), citado por MINOR & MARTH (1971), discutiram e compararam vários relatos, responsabilizando os estafilococos por um novo tipo de intoxicação e denominaram o fator de enterotoxina.

A freqüência dos surtos e a severidade dos sintomas caracterizam a intoxicação estafilocócica como um importante risco em muitos tipos de alimentos, o que vem merecendo cuidadosa atenção

dos pesquisadores, embora a doença apresente baixa mortalidade e curta duração (TROLLER, 1976).

Estafilococos patogênicos podem ser isolados em diversos locais do corpo humano, sendo que 20 a 70% de indivíduos são portadores assintomáticos (BERGDOLL, 1979; MINOR & MARTH, 1976), consistindo a cavidade nasal no principal reservatório (BERGDOLL, 1979; BAIRD-PARKER, 1990).

Os estafilococos enterotoxigênicos têm sido isolados de bovinos, equinos, suínos e aves (OLSON *et al.*, 1970; HÁJEK & MARSÁLEK, 1973; SHIOZAWA *et al.*, 1980) e de uma grande variedade de produtos alimentícios (NISKANEN, 1977; MOSSEL & NETTEN, 1990). A contaminação tem sido oriunda principalmente da manipulação humana, ou de matérias-primas procedentes de animais portadores (MINOR & MARTH, 1976).

2-ESTRUTURA QUÍMICA E ANTIGENICIDADE

As enterotoxinas estafilocócicas pertencem a um grupo de sete exoproteínas sorologicamente distintas e classificadas como EEA, EEB, EEC₁, EEC₂, EEC₃, EED e EEE. A EEA predomina nos surtos (WIENEKE & GILBERT, 1987; EVENSON *et al.*, 1988; BERGDOLL, 1990; SOKARI, 1991; PARK *et al.*,

1 - Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, Maringá - PR - Brasil, CEP 87020-900.
2 - Departamento de Microbiologia e Imunologia, UNESP - Campus de Botucatu, Botucatu - SP - Brasil, CEP 18618-000.
3 - Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR - Brasil, CEP 86051-970.

1992 ; WIENEKE *et al.*, 1993). Cerca de 5% das intoxicações são causadas por enterotoxinas ainda não identificadas (BERGDOLL, 1990).

As enterotoxinas são polipeptídeos de estrutura simples e similar, com peso molecular entre 27,5 a 30 kDa, cuja percentagem de homologia na seqüência de aminoácidos varia entre 29 a 82%. A semelhança nos sítios antigênicos divide as enterotoxinas em grupo de EEB e EEC e outro de EEA, EED e EEE.

A seqüência primária das enterotoxinas (MARRACK & KAPLLER, 1990), como também a seqüência de nucleotídeos e seus genes correspondentes entA, entB, entC₁, entC₂, entC₃, entD e entE, já foram estabelecidos (JONES & KHAN, 1986; BOHACH & SCHLIEVERT, 1987 ; BETLEY & MEKALANOS, 1988; COUGH *et al.*, 1988 ; BOHACH & SCHLIEVERT, 1989 ; COUCH & BETLEY, 1989 ; BAYLES & IANDOLO, 1989).

A composição das seqüências de genes tem revelado diferentes graus de relação entre os genes ent. Os três genes entC apresentam uma homologia de 98% entre si e homologia substancial de 74% com o entB. A relação do entB e do entC com o entA, de aproximadamente 50%, é bem menor do que entre o entA e o entE, que apresentam homologia de 84%. O entD está relacionado com o entA e com o entE em cerca de 54%, enquanto que com o entB e com o entC₁, a relação é de 40% (NEILL *et al.*, 1990).

A EEA e a EEE apresentam 233 aminoácidos e peso molecular de 27,1KDa e 26,4KDa, respectivamente (SINGH & BETLEY, 1989), com homologia de 82% na seqüência de aminoácidos e, embora possuam atividade biológica semelhante, diferem significativamente na estrutura secundária. O espectro de fluorescência mostra os resíduos de triptofano da EEA e da EEE localizados em região polar, porém a fluorescência intrínseca menor na EEE indica diferenças na estrutura terciária, uma vez que os aminoácidos próximos aos resíduos de triptofano são similares. A inibição da fluorescência produzida pelo triptofano por inibidores como o iodo e a acrilamida indicam localização superficial de pelo menos um dos dois resíduos, porém em regiões diferentes (SINGH & BETLEY, 1989).

Seis sítios antigênicos foram determinados para EEA e EEE, através de análises de hidrofília. A seqüência comum de aminoácidos em quatro sítios de ambas as enterotoxinas (SINGH & BETLEY, 1989) explica as reações sorológicas cruzadas com anticorpos monoclonais ou policlonais (THOMPSON *et al.*, 1986).

A EEB e a EEC₁ com 239 aminoácidos e peso molecular de 28,4KDa e 27,5KDa, respectivamente (HUANG & BERGDOLL, 1970; SCHMIDT & SPERO, 1983), apresentam homologia na ordem de 65% (SCHMIDT & SPERO, 1983), porém

com diferença significativa na natureza dos aminoácidos (HUANG & BERGDOLL, 1970 ; SCHMIDT & SPERO, 1983). Essas enterotoxinas possuem um único resíduo de triptofano, que se localiza na posição 197, sendo também idênticos os resíduos vicinais ao triptofano. Todavia, o espectro de fluorescência sugere grandes diferenças na estrutura terciária e localização do resíduo de triptofano na profundidade da matriz hidrofóbica das moléculas (SINGH *et al.*, 1988).

Sete sítios antigênicos, denominados de I a VII, foram determinados para EEB e EEC₁ através de análise de hidrofília e da estrutura secundária. Três desses sítios antigênicos, I, VI e VII, demonstram similaridade entre ambas as enterotoxinas e teoricamente resultam em 43% de reatividade sorológica cruzada (SINGH *et al.*, 1988), cujo valor aproxima-se da percentagem de reatividade cruzada de 33%, obtida experimentalmente por SPERO *et al.* (1978). Ensaio realizado com anticorpos monoclonais para EEB e EEC₁, revelando pelo menos dois anticorpos reagindo com ambas as toxinas (THOMPSON *et al.* 1984), reforçam a presença de sítios antigênicos semelhantes (SINGH *et al.*, 1988).

Dois sítios antigênicos da EEB, determinados experimentalmente por tripnização (SPERO & MORLOCK, 1979), coincidem com os sítios determinados teoricamente por SINGH *et al.* (1988). Um sítio entre os resíduos 140 a 154 localiza-se no fragmento carbono terminal de peso molecular 17,0KDa e o outro entre os resíduos 95 e 111, próximo ao sítio de clivagem com tripsina. Outros epítomos não puderam ser detectados com anticorpos policlonais, já que a tripnização resulta em apenas dois fragmentos (SPERO & MORLOCK, 1979).

A semelhança entre as enterotoxinas EEC₁, EEC₂ e EEC₃ permite identificação sorológica com anticorpos produzidos contra uma delas (BERGDOLL, 1990).

3 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Alimentos envolvidos em intoxicação estafilocócica, com presença de toxina e ausência de células, são relativamente comuns, em vista da extrema termorresistência das toxinas (TROLLER & STINSON, 1975).

Esta característica foi reconhecida em 1939 por DAVISON & DACK (apud MINOR & MARTH, 1972a), ao verificarem redução gradual na toxigenicidade, somente com a ebulição ou autoclavagem prolongada (MINOR & MARTH, 1972).

As enterotoxinas estafilocócicas são termoestáveis, e sua inativação depende, além da temperatura, da pureza, da composição e do pH do

meio (NOTERMANS *et al.*, 1987). TIBANA *et al.* (1987), estudando a termoestabilidade da EEA, EEB e EEC em PBS, constataram que a EEC apresenta maior termo estabilidade que a EEA e EEB, sendo a EEB consideravelmente mais resistente que a EEA.

As enterotoxinas impuras apresentam maior estabilidade, já que substâncias orgânicas presentes em meios complexos exercem efeitos protetores (MINOR & MARTH, 1972b; CHORDASH & POTTER, 1976; LEE *et al.*, 1977). O tempo de cocção normal e a temperatura usada em rotinas domésticas não eliminam enterotoxinas em alimentos contaminados (TIBANA *et al.*, 1987). A estabilidade é maior em pH 6,0 ou valores maiores do que a 4,5 ou 5,5, entretanto, para a EED, a inativação ocorre em pH 6,5 (TATINI, 1973).

Trabalhos realizados com EEB e EEC mostram que tratamentos térmicos a 100°C inativam ambas num período de 3 horas, sendo a inativação mais eficiente a 80°C do que a 100°C nos primeiros minutos (SATTERLEE & KRAFT, 1969; JAMLANG *et al.*, 1971; FUNG *et al.*, 1973). Segundo SATTERLEE & KRAFT (1969), este comportamento é resultante da formação de complexos ou agregados de toxinas, a temperaturas mais baixas.

A inativação por radiação exige doses de 2,7 mrad, para a redução de 90% de EEB em tampão veronal e uma dose quatro vezes superior, para o mesmo efeito em leite (READ & BRADSHAW, 1967).

Estudos sugerem maior perda da atividade imunológica entre 70 a 80°C do que 90 a 100°C (NOTERMANS *et al.*, 1987). SCHWABE *et al.* (1990) recuperaram a atividade biológica e imunológica da enterotoxina, após inativação pelo calor em extratos alimentares com pH 11,0, ajustando-o para 7,0.

4 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Uma homologia estrutural muito grande entre as enterotoxinas, próxima ao resíduo de meia cistina na posição 106 (Figura 1), sustenta a hipótese de que esta seja a parte da molécula responsável pela atividade emética (HUANG & BERGDOLL, 1970). STELMAJ & BERGDOLL (1982), com a finalidade de confirmar a hipótese, tentaram substituir o resíduo de metionina desta seqüência na EEA, porém sem sucesso. Entretanto, a substituição de cinco ou seis aminoácidos próximos à histidina inativou a emese, mas não afetou a capacidade de ligação com o anticorpo específico.

	106
EEA	lys-thr-ala-cys-met-tyr-gly-gly-val-thr-leu- his-asp-asn-asn-
EEB	lys-thr—cys-met-tyr-gly-gly- val-thr-gly his- gly- asn-asn-
EEC ₁	lys-thr—cys-met-tyr-gly-gly- ile- thr-lys his- glu- gly- asn-

FIGURA 1: Homologia estrutural da molécula de EEA, EEB e EEC₁ próxima ao resíduo de meia cistina na posição 106

A resistência das enterotoxinas à proteólise por tripsina, quimiotripsina, pepsina e papaína, provavelmente permite a passagem para o intestino, sem perda de suas atividades (TRANTER, 1990).

Entretanto, ao contrário de EEA, a EEB e EEC₁, são prontamente clivadas pela tripsina, não estando esclarecido se o tamanho menor da região conhecida como "alça de cistina", observado na EEA, seja responsável por esta maior resistência (HUANG *et al.*, 1987).

A clivagem com tripsina da EEB e EEC₁ forma 2 e 3 fragmentos, respectivamente, sendo que a atividade emética situa-se nos peptídeos C terminais. O peptídeo N terminal de 6.5KDa da EEC₁ exibiu atividade mitogênica sem emese, sugerindo que os sítios para estas atividades estão situados separadamente na molécula (SPERO & MORLOCK, 1978).

Os ensaios imunológicos detectam toxina em alimentos, porém não distinguem a biologicamente ativa da inativa (TRANTER, 1990). NOTERMANS *et al.* (1987) obtiveram anticorpos monoclonais capazes de neutralizar a emese provocada pela EEA em macacos. Embora o mecanismo seja desconhecido, provavelmente houve reação no "sítio biológico" ou em região adjacente, causando alteração conformacional da molécula, tornando-a incapaz de ligar-se aos receptores do trato gastro-intestinal.

Embora o mecanismo de ação ainda não esteja esclarecido, a intoxicação estafilocócica é caracterizada pela evolução da doença dentro de 1 a 6 horas, após a ingestão do alimento contaminado (BERGDOLL, 1979; BERGDOLL, 1983).

Os sintomas mais comuns são vômitos, náuseas, cólicas abdominais e diarreia (BERGDOLL, 1979; TRANTER & BREHN, 1990). Ocasionalmente, o quadro se complica, em função da quantidade ingerida e da susceptibilidade do indivíduo, incluindo desidratação, fezes muco-sanguinolentas, cefaléia, sudorese e alteração na temperatura corporal (MINOR & MARTH, 1976; BERGDOLL, 1979).

O sítio de emese das enterotoxinas situa-se no trato gastrointestinal (SUGIYAMA *et al.*, 1961; SUGIYAMA & HAYAMA, 1965; ELWELL *et al.*, 1975) e o vômito, característico desta intoxicação, provavelmente é provocado por estimulação de neuroreceptores localizados no trato gastrointestinal e transmitida ao centro do vômito, via vago e sistema nervoso simpático (BERGDOLL, 1979; BAIRD-PARKER, 1990). Entretanto, desconhecem-se as células alvo ou os sítios receptores envolvidos na ação das enterotoxinas no intestino, e menos ainda, o mecanismo responsável pela diarreia. A absorção ocorre em nível de mucosa gastrointestinal após 15 minutos da ingestão, e a hidrossolubilidade das enterotoxinas permite a eliminação rápida pelo rim, uma vez que, após 3 horas, não se detecta enterotoxina circulante (BERRY *et al.*, 1984), com o

restabelecimento do paciente dentro de 1 a 3 dias (TRANTER & BREHN, 1990). Diferente das enterotoxinas de *Escherichia coli* e de *Vibrio cholerae*, as enterotoxinas estafilocócicas não estimulam a adenilciclase.

A quantidade de toxina capaz de causar intoxicação depende do peso e sensibilidade individual, já que 0,1 a 1 g provocam quadros clínicos típicos de intoxicação (BERGDOLL, 1979). Este limiar pode ser ainda reduzido, já que um surto em Madison-Wis, envolvendo leite achocolatado, revelou que 200ng ou menos de EEA foram suficientes para intoxicar indivíduos sensíveis (EVENSON *et al.*, 1988).

As enterotoxinas estafilocócicas são potentes substâncias mitogênicas para células T, sendo concentrações em picogramas suficientes para a ativação. O papel das enterotoxinas como "superantígenos", causando ativação e proliferação de linfócitos T, tem sido extensivamente estudado (DOHLSTEN *et al.*, 1991).

Os "superantígenos", assim como os antígenos (Ag) convencionais, são apresentados ao receptor da célula T (T-cell receptor - TCR), através da molécula da classe II do complexo maior de histocompatibilidade (major histocompatibility complex - MHC) e ambos formam complexos ternários Ag-MHC II-TCR, responsáveis pela produção de linfocinas e proliferação das células T (SWAMINATHAN *et al.*, 1992). Porém, existe uma diferença muito grande entre a maneira de interação do "superantígeno", em relação ao Ag convencional, frente às moléculas MHC II e TCR. Os Ag convencionais são pré-processados em pequenos fragmentos peptídicos, que se ligam a uma região específica na superfície do MHC II, seguida de apresentação ao TCR, enquanto que o "superantígeno" se liga intacto ao MHC II. Todos os elementos variáveis das cadeias α e β do TCR, denominados de $V\alpha$, $J\alpha$, $V\beta$, $D\beta$, $J\beta$, contribuem para a interação do complexo peptídeo-MHC II. Todavia, o complexo "superantígeno"-MHC II interage exclusivamente com o elemento $V\beta$ do TCR, na face lateral do domínio $V\beta$, usualmente não envolvendo reconhecimento do antígeno. Devido ao grande número de combinações entre todos os elementos variáveis das cadeias α e β do TCR, a frequência da resposta das células T para um determinado peptídeo é baixa e controlada. A capacidade dos "superantígenos" de reconhecerem um ou mais produtos do gen $V\beta$, presentes em número restrito, desencadeiam intensa proliferação de células T (CHATILA & GEHA, 1992). DOHLSTEN *et al.* (1991) demonstraram evidências, sugerindo um mecanismo de autocitotoxicidade mediado por linfócito T através da ação de "superantígeno", que conduz à destruição de linfócitos T ativados.

5 - PRODUÇÃO DE ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

A produção de enterotoxinas varia com o tipo

de toxina, linhagem e meio de cultura SPERO *et al.*, citado por TRANTER & BREHN, 1990). As EEB e EEC₁ são produzidas em maior quantidade, freqüentemente excedendo 100 μ g/ml, enquanto que a EEA, EED e EEE raramente excedem concentrações de 5 a 10 μ g/ml (SCHEUSNER & HARMON, 1973 ; NISKANEN & LINDROTH, 1977 ; LEI *et al.*, 1988).

Os meios complexos representados por infusão de cérebro e coração (BHI) e hidrolisado de caseína são recomendados para a produção de enterotoxina (CASMEN & BENNETT, 1963 ; ROBBINS *et al.*, 1974). Embora o meio de PHP (Protein Hydrolysate Powder) e o meio de N-Z Amine NAK, isoladamente ou combinados e suplementados com tiamina e niacina, sejam os melhores, a não comercialização de seus ingredientes levam à utilização de outros meios complexos (KATO *et al.*, 1966 ; ROBBINS *et al.*, 1974).

O meio definido contendo sais, vitaminas e fontes de energia representadas pela glicose, glutamato ou aminoácidos não foi superior ao meio complexo (MAH *et al.*, 1967 ; WU & BERGDOLL, 1971 ; MILLER & FUNG, 1973 ; TRANTER & BREHN, 1990).

A arginina tem sido essencial para a produção de enterotoxina pela linhagem S-6, necessitando-se de pequenas quantidades de triptofano, cistina, tirosina, fenilalanina e metionina (WU & BERGDOLL, 1971).

Vários métodos têm sido propostos para aumentar a produção de enterotoxinas, incluindo as técnicas de cultura em saco de diálise (DONNELLY, *et al.*, 1967), ágar semi-sólido (CASMEN & BENNETT, 1963), frascos com agitação (KATO *et al.*, 1966) e *cellophane-over-agar* (HALLANDER, 1965). Os resultados comparativos revelam maior produtividade pela técnica de cultura em saco de diálise.

Segundo ROBBINS *et al.*, (1974), o método de "cellophane-over-agar" apresentou eficiência equivalente ao método de cultura em saco de diálise para EEA, EED e EEE, mas produziu muito menos EEB e EEC. Comparando-se o meio 3+3 (3% N-Z Amine NAK + 3% Protein Hydrolysate Powder), suplementado com 10,0 μ g de niacina/ml e 0,5 μ g de tiamina/ml e meio de BHI, ambos mostraram ser satisfatórios para todos os métodos de produção. Os autores recomendam o método "cellophane-over-agar" e meio BHI para a produção de enterotoxina, restringindo-se o método de saco de diálise de DONNELLY *et al.* (1967) para a confirmação de resultados duvidosos.

6 - FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO DE ENTEROTOXINAS EM ALIMENTOS

Entre os fatores que afetam o crescimento estafilocócico e a produção de enterotoxinas destacam-se o nível de contaminação, temperatura de conservação, atividade de água (A_w), concentração

de cloreto de sódio, outros sais e antibióticos, antioxidantes, acidez, atmosfera de conservação, embalagem, microbiota competitiva e o tipo de enterotoxina produzida (GENIGEORGIS, 1989).

A EEA e EED são mais freqüentes em surtos de intoxicação, já que, comparando com os outros sorotipos, permitem maior diversidade quanto às condições de crescimento, além de necessitar de um número menor de estafilococos (TRANTER, 1990).

Segundo LOPES *et al.* (1993), a presença de enterotoxina em leite, maionese de batata e ovo cozido dependem do tipo de alimento, temperatura, contagem de *S. aureus* e o tipo de enterotoxina produzida.

Produtos adversos ao crescimento de estafilococo, porém capazes de manter a sua viabilidade, tornam-se perigosos quando utilizados como ingredientes para alimentos propícios ao seu desenvolvimento (TRANTER, 1990).

O *S. aureus* é um mau competidor, sendo o crescimento e a produção de toxina prejudicada pela ação de outros microrganismos. Em culturas mistas, a produção de toxina ocorre somente se a contagem de *S. aureus* exceder o número de outros microrganismos (NOLETO *et al.*, 1987).

Os estafilococos podem atingir contagens elevadas nos alimentos, sem a produção de enterotoxina (TATINI, 1973 ; TROLLER & STINSON, 1975 ; SMITH *et al.*, 1983).

A diminuição da produção de enterotoxina em alimentos com A_w reduzida está relacionada com a disponibilidade de umidade, já que, a A_w de 0,90, mínima necessária para a formação de enterotoxinas, é maior do que para o crescimento (TROLLER & STINSON, 1975 ; TROLLER, 1976).

TROLLER (1986) verificou que a redução do pH de 6,8 para 5,6 aumentou a A_w mínima para a produção de EEB de 0,92 para 0,94. NOTERMANS & HEUVELMAN (1983) observaram que, e, pH 4,6 a 5,2, a A_w mínima em caldo variou de 0,99 a 0,90, para EEA. Para produção de EEC em pH 4,9 a 7,0, a A_w mínima variou de 0,99 a 0,93, respectivamente.

A produção de enterotoxina não ocorre em pH acima de 9,0, sendo reduzida a cerca de 50% em pH 8,0; em pH inferior a 5,0, pouca ou nenhuma enterotoxina é produzida (TROLLER, 1976). O pH ótimo para produção de EEB e EEC é de 6,8; para EEA está na faixa de pH 5,3 a 6,8, indicando que ocorre produção de EEA mesmo nas condições adversas às outras enterotoxinas e, conseqüentemente, sua maior incidência em surtos de intoxicação (NOTERMANS & HEUVELMAN, 1983).

O crescimento estafilocócico em baixa A_w depende dos solutos encontrados nos alimentos (TROLLER, 1976; 1986). NOTERMANS & HEUVELMAN (1983) não observaram diferenças no efeito do NaCl ou sacarose na produção de enterotoxina, embora em pH não controlado, menor

quantidade de enterotoxina seja produzida na presença de sacarose, provavelmente, devido à diminuição do pH, causado pela fermentação. A adição de glicose, glicerol e piruvato tende a reduzir a síntese de EEA, EEB e EEC. Porém, mantendo-se constantes os níveis de fontes de carbono e o pH em 6,5, não houve alteração na síntese, sugerindo que o declínio do pH é responsável pela redução da síntese de enterotoxina (MORSE *et al.*, 1969).

Os acidulantes utilizados em alimentos afetam a viabilidade de *S. aureus* em maior grau do que o pH, sendo o ácido acético o mais inibitório, seguido pelos ácidos cítrico, láctico, fosfórico e clorídrico (MINOR & MARTH, 1972_b).

SMITH *et al.* (1987) sugerem a ação direta do NaCl sobre a produção de enterotoxinas, na inibição da respiração. Postula-se que o sal interfere na utilização de substratos, afetando o transporte membranar ou inativando enzimas intracelulares envolvidas no metabolismo. O aumento da concentração salina de zero para 5,3% reduziu o crescimento de *S. aureus* 196-E e C-243 em 20% e a produção de EEB em quatro vezes, porém não afetou o nível de EEA (SMITH, *et al.*, 1987).

As concentrações de nitratos e nitritos permitidas para carnes curadas, as quais se tornam inibitórias em condições anaeróbias (BARBER & DEIBEL, 1972), não afetam o crescimento ou a produção de enterotoxina em aerobiose. O efeito de sorbatos e antioxidantes varia com a concentração, a combinação na formulação e o pH, embora uma maior inibição esteja associada à diminuição do pH, inóculo, temperatura e presença de NaCl, nitrito e anti-oxidantes fenólicos (GENIGEORGES, 1989).

A produção de enterotoxinas é favorecida em aerobiose, intensificando-se ainda mais em cultivo sob agitação (SMITH *et al.*, 1983). A temperatura ótima para produção é de 35 °C a 39 °C, cessando em 10 °C ou 45 °C (TROLLER, 1976).

Em suma, temperaturas superiores a 45 °C ou inferiores a 5 °C, $A_w < 0,90$, 3 a 10% de NaCl, pH acima de 9,0 e abaixo de 5,0 podem controlar ou limitar o crescimento e a produção de enterotoxina estafilocócica (MacLEAN *et al.*, 1968 ; GENIGEORGES *et al.*, 1969 ; MARKUS & SILVERMAN, 1970 ; TROLLER, 1976).

7 - EPIDEMIOLOGIA DA INTOXICAÇÃO ESTAFILOCÓCICA

Os alimentos incriminados na intoxicação estafilocócica incluem carne bovina, peixe, frango, derivados do leite, frutas, vegetais, saladas e produtos de panificação com cobertura ou recheios cremosos (GENIGEORGIS, 1989; TRANTER, 1990).

S. aureus constitui microbiota do vestibulo nasal de 10 a 50% de indivíduos assintomáticos,

podendo esta percentagem alcançar 60 a 80% em pacientes e servidores hospitalares. HERRERO (1992) encontrou *S. aureus* no vestíbulo nasal, orofaringe e mãos de 75% dos servidores hospitalares estudados. O número, a linhagem e o tempo de permanência de estafilococos no vestíbulo nasal varia consideravelmente entre indivíduos (GENIGEORGIS, 1989), que se tornam facilmente portadores de *S. aureus* na pele.

Trabalhos determinando a enterotoxigenicidade de *S. aureus* isolado de humanos e de alimentos indicam que mais de 50% das linhagens são enterotoxigênicas (MOSSEL & NETTEN, 1990). Conseqüentemente, a falha na manipulação associada à conservação inadequada dos alimentos nos estabelecimentos comerciais é a grande responsável pelos surtos. Por exemplo, bolos confeitados e queijo minas contaminados por *S. aureus* foram responsáveis por 14 surtos de intoxicação em Belo Horizonte, devido à negligência na refrigeração (CARMO & BERGDOLL, 1990). Concentrados de leite de búfalo, submetidos a processo de cozimento recontaminaram-se por *S. aureus* durante a manipulação (TEUFEL *et al.*, 1992). Carne recheada com paio foi responsável por surto de intoxicação alimentar no Rio de Janeiro, devido, possivelmente, ao emprego de tratamento térmico insuficiente durante a preparação e à conservação inadequada pós-preparo (NOLETO & TIBANA, 1978).

Outros fatores que contribuem para o aparecimento dos surtos são cozimento ou descongelamento inadequado, aproveitamento de sobras alimentares e utilização de equipamentos contaminados (GENIGEORGIS, 1989; TRANTER, 1990).

Diferentes animais apresentam *Staphylococcus sp* principalmente na microbiota nasal e de pele, constituindo importantes reservatórios. Conseqüentemente, o uso de matéria-prima de boa qualidade e a prevenção do crescimento estafilocócico são cruciais, mesmo em produtos processados termicamente, em vista da termoestabilidade das enterotoxinas.

A pasteurização deve garantir eliminação de *S. aureus* presente no leite mastítico ou de animais assintomáticos, porém presença de 10^3 UFC/ml de estafilococo foi relatada em leite pasteurizado (SANTOS *et al.*, 1981). Matéria-prima contaminada, associada a tratamento térmico insuficiente foi responsável por surtos ocorridos no Egito, em 1986, envolvendo leite em pó desnatado (EL-DAIROUTY, 1989). EVENSON *et al.* (1988) relataram um surto de

intoxicação ocorrido nos Estados Unidos após ingestão de leite achocolatado, onde se detectou EEA na ausência de *S. aureus*. Provavelmente a manutenção inadequada do leite antes da pasteurização permitiu o crescimento estafilocócico e produção de enterotoxina.

Alimentos submetidos a tratamentos com temperaturas inferiores à de pasteurização podem apresentar estafilococos com injúrias subletais, constituindo-se risco à saúde pública, já que, dependendo das condições de conservação, as células injuriadas revitalizam e produzem enterotoxina. Além disso, temperaturas de 0 e 4 °C não afetam a viabilidade de estafilococos termoinjuriados, embora retarde o processo de reparo. Alimentos submetidos a processamento térmico e mantidos sob refrigeração permitem produção de enterotoxina, em caso de refrigeração descontínua, retardo ou lentidão no processo de resfriamento (HERNÁNDEZ *et al.*, 1993).

A presença de *S. aureus* em carnes frescas e produtos derivados, relacionada a surtos de intoxicação, foi extensivamente revisada por BRYAN (1988); BRYANT *et al.* (1988) e MARIN *et al.* (1992).

A carne bovina e de frango foram responsáveis por 47,3% dos surtos de intoxicação estafilocócica ocorridos nos Estados Unidos entre 1975 e 1982 (GENIGEORGIS, 1989). Nesse mesmo país, entre 1983 e 1987, as carnes de boi, frango, peru e os derivados, representados por presunto e salada de frango, causaram 42,2% dos surtos (THAYER & BOYD, 1992). Na Grã Bretanha, 75% dos surtos de intoxicação estafilocócica ocorridos, entre 1969 e 1990, foram devidos à carne bovina, frango e derivados (WIENEKE *et al.*, 1993). Na Finlândia, os responsáveis mais freqüentes são o peixe defumado e o presunto consumido no Natal (GENIGEORGIS, 1989). No Paraná, entre 1978 e 1992, os alimentos envolvidos em surtos de intoxicação estafilocócica foram carne, leite e derivados e preparações mistas constituídas de produtos de origem animal e vegetal, tais como, maionese de batata, panqueca, farofa e tortas salgadas (informações pessoais de Camargo & Souza da Secretaria de Saúde do Estado do Paraná).

Em suma, anualmente milhões de indivíduos são vítimas de intoxicação alimentar resultante da ingestão de enterotoxinas produzidas por determinadas linhagens de *S. aureus*. Considerando que este microrganismo é um dos agentes mais freqüentes na microbiota humana e animal, a incidência real provavelmente seja muito superior aos casos relatados, em vista da fugacidade da doença, que não requer recursos médicos na maioria dos indivíduos expostos.

ABSTRACT: *Staphylococcal intoxication, caused by enterotoxins produced by species of Staphylococcus, is a constant problem in the Public Health, in consequence of the frequency of cases and thermostability of the toxin. Considering that this microorganism is one of the most common agents isolated from human and animal flora, the review relates briefly about structure, physicochemical and biological properties of staphylococcal enterotoxins and factors involved with their production in foods.*

KEY-WORDS: *enterotoxin; staphylococci; poisoning.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIRD-PARKER, A.C. The staphylococci: an introduction. In: DOROTHY, J. (Ed.). *Staphylococci*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1990. p.1-8
- BARBER, L.E. ; DEIBEL, R.H. Effect of pH and oxygen tension of staphylococcal growth and enterotoxin formation in fermented sausage. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.24, p.891-898, 1972.
- BAYLES, K.W. ; IANDOLO, J.J. Genetic and molecular analyses of the gene encoding staphylococcal enterotoxin D. *J. Bacteriol.*, v.171, n.9, p.4799-4806, 1989.
- BEERY, J.T. ; TAYLOR, S. ; SCHLUNZ, L. R. ; FREED, R.C. ; BERGDOLL, M.S. Effects of staphylococcal enterotoxin A on the rat gastrointestinal tract. *Infect. Immunity*, v.44, n.2, p.234-240, 1984.
- BERGDOLL, M.S. Enterotoxins. in: EASMAN, C.F.S.; ADLAM, C. (Eds.) *Staphylococci and staphylococcal infections*. London: Academic Press, 1983. v.2, p.559-598
- BERGDOLL, M.S. Analytical methods for *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Food Microbiol.*, v.10, p.91-100, 1990.
- BERGDOLL, M.S. Staphylococcal intoxications. In: RIEMANN, H. ; BRYAN, F.L. (Eds.) *Foodborne infections and intoxications*. 2. ed. New York: Academic Press, 1979. p.443-494.
- BETLEY, M.J. ; MEKALANOS, J.J. Nucleotide sequence of the type A staphylococcal enterotoxin gene. *J. Bacteriol.*, v.170, n.1, p.34-41, 1988.
- BOHACH, G.A. ; SCHLIEVERT, P.M. Conservation of the biologically active portions of staphylococcal enterotoxins C₁ e C₂. *Infect. Immun.*, v.57, p.2249-2252, 1989.
- BOHACH, G.A. ; SCHLIEVERT, P.M. Nucleotide sequence of the staphylococcal enterotoxin C₁ gene and relatedness to other pyrogenic toxins. *Mol. Gen. Genet.*, v.209, p.15-20, 1987.
- BRYAN, F.L. Risks associated with vehicles of foodborne pathogens and toxins. *J. Food Prot.*, v.41, p.498-508, 1988.
- BRYANT, R.G. ; JARVIS, J. ; GUILBERT, G. Selective enterotoxin production by a *Staphylococcus aureus* strain implicated in a foodborne outbreak. *J. Food Protec.*, v.51, n.2, p.130-131, 1988.
- CARMO, L.S. ; BERGDOLL, M.S. Staphylococcal food poisoning in Belo Horizonte (Brazil). *Rev. Microbiol.*, v.21, n.4, p.320-323, 1990.
- CASMAN, E.P. ; BENNETT, R.W. Culture medium for the production of staphylococcal enterotoxin A. *J. Bacteriol.*, Washington, v.86, p.18-23, 1963.
- CHALITA, T. ; GEHA, R.S. Superantigens. *Curr. Op. Immunol.*, v.4, p.74-78, 1992.
- CHORDASH, R.A. ; POTTER, N.N. Stability of staphylococcal enterotoxin A to selected conditions encountered in foods. *J. Food Sci.*, Chicago, v.41, p.906-909, 1976.
- COUCH, J.L. ; SOLTIS, M.T. ; BETLEY, M.J. Cloning and nucleotide sequence of the type E staphylococcal enterotoxin gene. *J. Bacteriol.*, v.170, n.7, p.2954-2960, 1988.
- COUCH, J.L. ; BETLEY, M.J. Nucleotide sequence of the type C₃ staphylococcal enterotoxin gene suggests that intergenic recombination causes antigenic variation. *J. Bacteriol.*, v.171, n.8, p.4507-4510, 1989.
- DOHLSTEN, M. ; HEDLUND, G. ; KALLAND, T. Staphylococcal-enterotoxin-dependent- cell-mediated cytotoxicity. *Immunol. Today*, v.12, n.5, 1991.
- DONNELLY, C.B. ; LESLIE, J.E. ; BLACK, L.A. *et al.* Serological identification of enterotoxigenic staphylococci from cheese. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.15, p.1382-1387, 1967.
- EL-DAIROUTY, K.R. Staphylococcal intoxication traced to non-fat dried milk. *J. Food Protect.*, v.52, n.12, p.901-902, 1989.
- ELWELL, M.R. ; LIU, C.T. ; SPERTZEL, R.O. ; BEISEL, W.R. Mechanisms of oral staphylococcal enterotoxin B-induced emesis in the monkey. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.148, p.424-427, 1976.
- EVENSON, M.L. ; HINDS, M.W. ; BERNSTEIN, R.S. ; BERGDOLL, M.S. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. *Int. J. Food Microbiol.*, v.7, p.311-316, 1988.
- FUNG, D.Y.C. STEINBERG, D.H. ; MILLER, R.D. *et al.* Thermal inactivation of staphylococcal enterotoxins B and C. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.26, p.938-942, 1973.
- GENIGEORGES, C.A. ; REIMAN, H. ; SADLER, W.W. Production of enterotoxin in cured meats. *J. Food Sci.*, Chicago, v.34, p.62-68, 1969.
- GENIGEORGIS, C.A. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. *Int. J. Food Microbiol.*, v.9, p.327-360, 1989.

- HÁJEK, F. ; MARSAÁLEK, E. The occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains in hosts of different animal species. *Zentralbl. Bakteriol. Hyg. I. Abt. Orig. A.* Stuttgart, v.223, p.63-68, 1973.
- HALLANDER, H.O. Production of large quantities of enterotoxin B and other staphylococcal toxins on solid media. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Copenhagen, v.63, p.299-305, 1965.
- HERNÁNDEZ, F.J. ; GOYACHE, J. ; ORDEN, J.A. ; BLANCO, J.L. ; DOMÉNECH, A. ; SUÁREZ, G. ; GÓMEZ-LUCIA, E. Repair and enterotoxin synthesis by *Staphylococcus aureus* after thermal shock. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.59, n.5, p.1515-1519, 1993.
- HERRERO, F. Estafilococos enterotoxigênicos em portadores assintomáticos: isolamento e efeito de oxacilina na produção de proteínas extracelulares de interesse em alimentos. Londrina, 1992. Tese (Mestrado) - Fundação Universidade Estadual de Londrina, Paraná.
- HUANG, I.Y. ; HUGHES, J.L. ; BERGDOLL, M.S. ; SCHANTZ, E.J. Complete amino acid sequence of staphylococcal enterotoxin A. *J. Biol. Chem.*, v.262, n.15, p. 7006-7013, 1987.
- HUANG, I.Y. ; BERGDOLL, M.S. The primary structure of staphylococcal enterotoxin B. III. The cyanogen bromide peptides of reduced and aminoethylated enterotoxin B, and the complete amino acid sequence. *J. Biol. Chem.*, v.245, p.3518-3525, 1970.
- JAMLANG, E.M. ; BARTLETT, M.L. ; SNYDER, H.E. Effect of pH, protein concentration and ionic strength on heat inactivation of staphylococcal enterotoxin B. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.22, p.1034-1040, 1971.
- JONES, C.L. ; KHAN, S.A. Nucleotide sequence of the enterotoxin B gene from *Staphylococcus*. *J. Bacteriol.*, v.166, n.1, p.29-33, 1986.
- KATO, E. ; KHAN, M. ; KUJOVICH, L. *et al.* Production of enterotoxin A. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.14, p.966-972, 1966.
- LEE, J.C. ; HARMON, L.G. ; PRICE, J.F. Growth and enterotoxin production by staphylococci in Genoa salami. *J. Food Protect.*, Ames, v.40, p.325-329, 1977.
- LEI, Z. ; REISER, R.F. ; BERGDOLL, M.S. Chromatofocusing in the purification of staphylococcal enterotoxin D. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, v.26, n.6, p. 1236-1237, 1988.
- LOPES, H.R. ; NOLETO, A.L.S. ; LAS HERAS, M.D. ; BERGDOLL, M.S. Selective enterotoxin production in foods by *Staphylococcus aureus* strains that produce more than one enterotoxin. *J. Food Protec.*, v.56, n.6, p.538-540, 1993.
- MacLEAN, R.A. ; LILLY, H.D. ; ALFORD, J.A. Effects of meat-curing salts and temperature on production of staphylococcal enterotoxin B. *J. Bacteriol.*, Washington, v.95, p.1207-1211, 1968.
- MAH, R.A. ; FUNG, D.Y.C. ; MORSE, S.A. Nutritional requirements of *Staphylococcus aureus* S-6. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.16, p.866-870, 1967.
- MARIN, M.E. ; DE LA ROSA, M.C. ; CORNEJO, I. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus* strains isolated from spanish dry-cured hams. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.58, n.3, p.1067-1069, 1992.
- MARKUS, Z.H. ; SILVERMAN, G.J. Factors affecting the secretion of staphylococcal enterotoxin A. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.20, n.3, p.492-496, 1970.
- MARRACK, P. ; KAPPLER, J. The staphylococcal enterotoxin and their relatives. *Sci.*, v.248, p.705-711, 1990.
- MILLER, R.D. ; FUNG, D.Y.C. Amino acid requirements for the production of enterotoxin B by *Staphylococcus aureus* S-6 in a chemically defined medium. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.25, p.800-806, 1973.
- MINOR, T.E. ; MARTH, E.H. *Staphylococci and their significance in foods*. Amsterdam, Elsevier, 1976. p.297.
- MINOR, T.E. ; MARTH, E.H. II. Enterotoxins and epidemiology. *J. Milk Food Technol.*, Ames, v.35, p.21-29, 1972a.
- _____. Loss of viability by *Staphylococcus aureus* in acidified media. II. Inactivation by acids in combination with sodium chloride, freezing, and heat. *J. Milk Food Technol.*, Ames, v.35, p.548-555, 1972b.1988.
- MORSE, S.A. ; MAH, R.A. ; DOBROGOSZ, W.J. Regulation of staphylococcal enterotoxin B. *J. Bacteriol.*, Washington, v.98, p.4-9, 1969.
- MOSSEL, D.A.A. ; NETTEN von P. *Staphylococcus aureus* and related staphylococci in food: ecology, proliferation, toxigenesis, control and monitoring. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.*, v.69, p.123s-145s, 1990.
- NEILL, R.J. ; FANNING, G.R. ; DELAHAZ, F. ; WOLFF, R. ; GEMSKI, P. Oligonucleotide probes for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* strains containing genes for enterotoxins A, B and C and Toxic Shock Syndrome Toxin 1. *J. Clin. Microbiol.*, v.28, n.7, p.1514-1518, 1990.
- NISKANEN, A. ; LINDROTH, S. Suitability of the enzyme treatment and ammonium sulphate precipitation method for detection of staphylococcal enterotoxin from different foods. *Eur. J. Appl. Microbiol.*, (s.l.), v.4, n.3, p.233- 237, 1977.
- NISKANEN, A. *Staphylococcal enterotoxins and food poisoning*. Production/properties and detection of enterotoxins. Filand: Technical Centre of Filand , 1977. 83p.
- NOLETO, A.L.S. ; MALBURG, L.M. ; BERGDOLL, M.S. Production of staphylococcal enterotoxin in mixed cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.53, n.10, p.2271-2274, 1987.
- NOLETO, A.L.S. ; TIBANA, A. Outbreak of staphylococcal enterotoxin B food poisoning. *Rev. Microbiol.*, v.18, n.2, p.144-145, 1987.
- NOTERMANS, S. ; BOOT, R. ; TATINI, S.R. Selection of monoclonal antibodies for detection of staphylococcal enterotoxins in heat processed foods. *Int. J. Food Microbiol.*, v.5, p.49-55, 1987.
- NOTERMANS, S. ; HEUVELMAN, C.J. Combined effect of water activity, pH and suboptimal temperatures on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. *J. Food Sci.*, Chicago, v.48, n.6, p.1832-1835, 1983.
- OLSON, J.C. ; CASMAN, E.P. ; BAER, E.F. *et al.* Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* cultures isolated from acute cases of bovine mastitis. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.20, p.605-607, 1970.

- PARK, C.E. ; AKHTAR, M. ; RAYMAN, M.K. Nonspecific reactions of commercial enzyme-linked immunosorbent assay kit (TECRA) for detection of staphylococcal enterotoxins in foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.58, n.8, p.2509-2512, 1992.
- READ, R.B. ; BRADSHAW, J.G. Irradiation of staphylococcal enterotoxin B. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.15, p.603-605, 1967.
- ROBBINS, R. ; GOULD, S. ; BERGDOLL, M. Detecting the enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains. *Appl. Microbiol.*, v.28, n.6, p.946-950, 1974.
- SANTOS, E.C. ; GENIGEORGIS, C. ; FARVER, T.B. Prevalence of *Staphylococcus aureus* in raw and pasteurized milk used for commercial manufacturing of Brazilian Minas cheese. *J. Food Protec.*, v.44, p.172-176, 1981.
- SATTERLEE, L.D. ; KRAFT, A.A. Effect of meat and isolated meat proteins on the thermal inactivation of staphylococcal enterotoxin B. *Appl. Microbiol.*, Washington, v.17, p.906-909, 1969.
- SCHEUSNER, D.L. ; HARMON, L.G. Growth and enterotoxin production by various strains of *Staphylococcus aureus* in selected foods. *J. Food Sci.*, Chicago, v.38, p.474-476, 1973.
- SCHMIDT, J.J. ; SPERO, L. The complete amino acid sequence of staphylococcal enterotoxin C₁. *J. Biol. Chem.*, v.258, n.10, p.6300-6306, 1983.
- SCHWABE, M. ; NOTERMANS, S. ; BOOT, R. ; TATINI, S.R. ; KRÄMER, J. Inactivation of staphylococcal enterotoxins by heat reactivation by high pH treatment. *Int. J. Food Microbiol.*, v.10, p.33-42, 1990.
- SHIOZAWA, K. ; KATO, E. ; SHIMIZU, A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from chickens. *J. Food Protect.*, Ames, v.43, p.683-685, 1980.
- SINGH, B.R. ; EVENSON, M.L. ; BERGDOLL, M.S. Structural analysis of staphylococcal enterotoxins B and C₁ using circular dichroism and fluorescence spectroscopy. *Biochem.*, v.27, p.8735-8741, 1988.
- SINGH, B.R. ; BETLEY, M.J. Comparative structural analysis of staphylococcal enterotoxins A and E. *J. Biol. Chem.*, v.264, n.8, p.4404-4411, 1989.
- SMITH, J.L. ; BUCHANAN, R.L. ; PALUMBO, S.A. Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis. *J. Food Protect.*, Ames, v.46, n.6, p.545-555, 1983.
- SMITH, J.L. ; MAURER, M.J. ; BENCIVENGO, M.M. *et al.* Effect of sodium chloride on uptake of substrate by *Staphylococcus aureus* 196-E. *J. Food Protect.*, Ames, v.50, n.11, p.968-974, 1987.
- SOKARI, T. Distribution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat foods in eastern Nigeria. *Int. J. Food Microbiol.*, v.12, p.275-280, 1991.
- SPERO, L. ; MORLOCK, B.A. ; METZGER, J.F. On the cross reactivity of staphylococcal enterotoxins A, B e C. *J. Immunol.*, v.120, n.1, p.86-89, 1978.
- SPERO, L. ; MORLOCK, B.A. Biological activities of the peptides of staphylococcal enterotoxin C formed by limited tryptic hydrolysis. *J. Biol. Chem.*, v.253, n.24, p.8787-8791, 1978.
- SPERO, L. ; MORLOCK, B.A. Cross-reactions between triptic polypeptides of staphylococcal enterotoxins B and C. *J. Immunol.*, v.12, p.1285-1289, 1979.
- STELMA, G.N. ; BERGDOLL, M.S. Inactivation of staphylococcal enterotoxin A by chemical modification. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, v.105, p.121-126, 1982.
- SUGIYAMA, H. ; CHOW, L. ; DRAGSTEDT, L.R. Study of emetic receptor sites for staphylococcal enterotoxin in monkeys. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.108, p.92-95, 1961.
- SUGIYAMA, H. ; HAYAMA, T. Abdominal viscera as site of emetic action for staphylococcal enterotoxin in the monkey. *J. Infect. Dis.*, v.115, p.330-336, 1965.
- SWAMINATHAN, S. ; FUREY, W. ; PLETCHER, J. ; SAX, M. Crystal structure of staphylococcal enterotoxin B, a superantigen. *Nature*, v.359, p.801-806, 1992.
- TATINI, S.R. Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. *J. Milk Food Technol.*, Ames, v.36, n.11, p.559-563, 1973.
- TEUFEL, P. ; BRYAN, F.L. ; QUADAR, F. ; RIAZ, S. ; ROLLH, S. ; MALIK, Z. Risks of salmonellosis and staphylococcal food poisoning from paskitani milk-based confectioneries. *J. Food Protec.*, v.55, n.8, p.588-594, 1992.
- THAYER, D.W. ; BOYD, G. Gamma ray processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat. *J. Food Science*, v.57, n.4, p.848-851, 1992.
- THOMPSON, N.E. ; KETTERHAGEN, M.J. ; BERGDOLL, M.S. Monoclonal antibodies to staphylococcal enterotoxins B and C: cross-reactivity and localization of epitopes on triptic fragments. *Infect. Immunity*, v.45, n.1, p.281-285, 1984.
- THOMPSON, N.E. ; RAZDAN, M. ; KUNTSMANN, G. ; ASCHENBACH, J.M. ; EVENSON, M.L. ; BERGDOLL, M. Detection of staphylococcal enterotoxins by enzyme-linked immunosorbent assays and radioimmunoassays: comparison of monoclonal and polyclonal antibody systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.51, n.5, p.885-890, 1986.
- TIBANA, A. ; RAYMAN, K. ; AKHTAR, M. ; SZABO, R. Thermal stability of staphylococcal enterotoxins A, B and C in a buffered system. *J. Food Protec.*, v.50, n.3, p.239-242, 1987.
- TRANter, H.S. Foodborne illness. Foodborne staphylococcal illness. *The Lancet*, oct. 27, 1990.
- TRANter, H.S. ; BREHM, R.D. Production, purification, and identification of the staphylococcal enterotoxins. In: JONES, D. (Ed.) *Staphylococci*. Oxford: Blackell Scientific Publications, 1990. p.109-122.
- TROLLER, J.A. Staphylococcal growth and enterotoxin production factors for control. *J. Milk Food Technol.*, Ames, v.39, n.7, p.499-503, 1976.
- TROLLER, J.A. Water relations of foodborne bacterial pathogens an update review. *J. Food Protect.*, Ames, v.49, n.8, p.656-670, 1986.
- TROLLER, J.A. ; STINSON, J.V. Influence of water activity on growth and enterotoxin formation by *Staphylococcus aureus* in foods. *J. Food Sci.*, Chicago, v.40, p.802-804, 1975.

WIENEKE, A.A. ; ROBERTS, D. ; GILBERT, R.J. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969 - 1990. *Epidem. Infect.*, v.110, n.3, p.519-531, 1993.

WIENEKE, A.A. ; GILBERT, R.J. Comparison of four methods for the detection of staphylococcal enterotoxin in foods from outbreaks of food poisoning. *Int. J. Food Microbiol.*, v.4, p.135-143, 1987.

WU, C.H. ; BERGDOLL, M.S. Stimulation of enterotoxin B production. II. Synthetic medium for staphylococcal growth and enterotoxin B production. *Infect. Immun.*, Washington, v.3, p.784-792, 1971.

Recebido para publicação em 31/08/94