



## CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DE *STREPTOCOCCUS UBERIS* CAUSADOR DE MASTITE BOVINA

Alessandra Módena Orsi <sup>\*1</sup>, Tiago Tomazi,\* Cristian M. M. Rodrigues Martins\*, Marcos André Arcari\*, Larissa Martins, Carlos Fidelis, Marcos Veiga dos Santos\*

\*Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal – VNP - Universidade de São Paulo

<sup>1</sup> alessandramodenaorsi@gmail.com

*Streptococcus uberis* é um importante patógeno causador de mastite clínica e subclínica em vacas leiteiras. É isolado frequentemente a partir de glândulas mamárias de vacas multíparas durante o período seco, o que aumenta o risco de mastite clínica no peri-parto tanto em vacas quanto novilhas. É considerado a causa de aproximadamente 20-30% dos casos de mastite clínica em vacas leiteiras. Para que ocorra à infecção intramamária, *S. uberis* tem que ser capaz de resistir aos mecanismos de defesa da glândula mamária, por meio de fatores de virulência. A capacidade de formar biofilme é um dos fatores de virulência sendo bastante estudado em outros patógenos da mastite como o *Staphylococcus aureus*. Para avaliar a capacidade de *Streptococcus uberis* em formar biofilme, no presente estudo foram utilizados 15 isolados de mastite subclínica e 74 de mastite clínica. Para avaliar a capacidade de formação de biofilme foi utilizado a metodologia de micro diluição em placas. Alíquotas de 200 µL de cada isolado, em triplicatas, foram transferidas para microplacas de poliestileno estéril com 96 poços de fundo chato, e incubadas em estufa bacteriológica à 37°C por 24 horas. Após a incubação, as microplacas foram lavadas com 300 µL de água destilada estéril por 3 vezes, fixadas com 250 µL de metanol por 15 minutos em temperatura ambiente, coradas com 250 µL de cristal de violeta por 5 minutos, 3 lavagens com 300 µL de água destilada estéril, foram secadas e ressolubilizadas com 250 µL de ácido acético glacial a 33% (vol/vol). Para leitura da densidade ótica foi utilizado leitor de ELISA fixado em 620nm e os resultados foram expressos de acordo com a densidade ótica (DO). Foi utilizado como controle negativo o TSB estéril, a cepa ATCC *Staphylococcus epidermidis* 12228 conhecido como não produtor de biofilme e o controle positivo a cepa ATCC *Staphylococcus epidermidis* 35984 conhecido como forte produtor de biofilme e usadas como referência para determinar a capacidade dos isolados de *Staphylococcus aureus* na produção de biofilme. Os isolados de *S. uberis* foram classificada em três categorias quanto a formação de biofilme: fraco, moderado, forte e não formador de biofilme. Um total de 55 isolados de *S. uberis* foram classificados como não formadores de biofilme, sendo 14 (11,76%) oriundos de casos de mastite subclínica e 41 (34,45%) de mastite clínica, 13 (10,92%) dos isolados de mastite clínica apresentaram fraca produção de biofilme, 30 (25,21%) dos isolados de mastite clínica apresentaram moderada capacidade de formar biofilme e apenas 1 isolado (0,84%) oriundo de casos de mastite subclínica e 20 (16,80%) mastite clinica apresentaram forte capacidade de formar biofilme. No total, 54 (61%) isolados de *S. uberis* apresentaram capacidade de formação de biofilme, isso evidencia que a capacidade de formar biofilmes pode ser um fator de virulência envolvido na infecção intramamária causada por *S. uberis*.

**Palavras chave:** fator de virulência, formação de biofilme, mastite