

ENSINO SUPERIOR - BOLSISTAS DE PROJETOS DE PESQUISA -  
MEDICINA VETERINÁRIA

**PERFIL DE FORMAÇÃO DE BIOFILME POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS  
ATCC 25923 E ISOLADOS DE CASOS DE MASTITE**

*Marcos Paulo Vieira De Oliveira (spw8@protonmail.com)*

*Alessandra Farias Millezi (alessandra.millezi@ifc.edu.br)*

*Diogenes Dezen (diogenes.dezen@ifc.edu.br)*

*Mariana Cordeiro (marianacordeiro05@hotmail.com)*

*Marcella Zampoli Troncarelli (marcella.troncarelli@ifc.edu.br)*

*Tiago Da Silva Tibolla (tiagotibolla@gmail.com)*

A principal causa de mastite é a infecção bacteriana e dentre as bactérias causadoras o *Staphylococcus aureus* se destaca, sendo caracterizado por ser uma bactéria do tipo coco, gram positiva e catalase positiva. Um dos mecanismos relacionados à capacidade de infecção e resistência bacteriana é o biofilme, uma matriz extracelular de exopolissacarídeos produzidos pela bactéria, atuando como barreira a agentes antimicrobianos. Tendo em vista a relação do *S. aureus* com a mastite, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o perfil de formação de biofilme de diferentes cepas de *S. aureus*. Um total de 30 isolados foram cedidos pelo laboratório de Microbiologia Veterinária do IFC Campus Concórdia, todos provenientes de casos de mastite bovina, para efeitos comparativos a cepa padrão ATCC de *Staphylococcus aureus* 25923 foi analisada. Para a análise fenotípica de formação de biofilme, os 30 isolados e cepa ATCC 25923 foram estriados em Ágar Vermelho Congo (VC)

suplementado com sacarose 5%, o cultivo foi realizado em 24, 48 e 72h a 37°C em incubadora BOD, o enegrecimento das colônias caracterizou isolados fenotipicamente produtores de biofilme. Dos isolados fenotipicamente produtores selecionou-se seis mais a cepa ATCC 25923 e um não produtor, estes foram submetidos à determinação quantitativa. A metodologia para determinação quantitativa foi o Cristal Violeta (CV), realizada em triplicata com 3 repetições. Procedeu-se inicialmente à padronização do inóculo, montou-se as microplacas de 96 poços, estas incubadas por 24, 48 e 72h em shaker orbital a 37°C. Após incubação descartou-se o líquido e lavou-se os poços com água deionizada, após secagem foram adicionados 200 ul de metanol por 15 min, em sequência adicionou-se 200 ul de cristal violeta por cinco min, descartou-se o cristal violeta e lavou-se com água deionizada. Novamente a microplaca foi seca, e adicionado ácido acético glacial a 33%, efetuando-se leitura em espectrofotômetro a 550nm. Os isolados foram classificados de acordo com densidade óptica (DO), aqueles com DO igual ou inferior ao controle (DOc, meio inerte) foram classificados como não produtores de biofilme(np), aqueles cuja DO foi inferior a duas vezes DOc como fracos produtores (f), DO inferior a quatro vezes DOc como moderadamente (m) produtores e os que apresentaram DO superior a quatro vezes DOc como fortes produtores (fr). Na análise dos resultados através do teste one-way ANOVA a 5% de significância para a DO, constatou-se que houve diferença significativa entre 24 e 48h para quatro isolados, sete isolados apresentaram diferença significativa entre 24 e 72h, de acordo com o critério de classificação: em 24h três isolados foram classificados como f, três como m, dois como fr; em 48h três foram f, um foi classificado como mo, quatro como fr. Já em 72, um foi classificado como f, dois como m, cinco como fr. A definição do perfil de formação de biofilme é a base para testes de potenciais agentes com atividade antibiofilme.