

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MARIA EDUARDA ARTUSO SCHNORR

CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME EM ISOLADOS DE MASTITE

**REALEZA
2023**

MARIA EDUARDA ARTUSO SCHNORR

CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME EM ISOLADOS DE MASTITE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Karina Ramirez Starikoff

**REALEZA
2023**

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Schnorr, Maria Eduarda Artuso
CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME EM ISOLADOS DE
MASTITE / Maria Eduarda Artuso Schnorr. -- 2023.
13 f.

Orientadora: Doutora Karina Ramirez Starikoff

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária, Realeza, PR, 2023.

1. Biofilme. 2. Mastite. I. Starikoff, Karina
Ramirez, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME EM ISOLADOS DE MASTITE

Maria Eduarda Artuso Schnorr^{1*}
Karina Ramirez Starikoff^{2**}

RESUMO

A mastite é a principal doença que acomete os rebanhos leiteiros, com custo oneroso a pecuária leiteira, e sua ligação com saúde pública, visto que, ocorre a veiculação de patógenos que podem acarretar doenças nos humanos. Sua múltipla etiologia é um problema para o controle, pois pode ser derivada de origens fisiológica, traumática, alérgica, metabólica e/ou infecciosa. Já os patógenos envolvidos nas mastites, podem se apresentar como formadores de biofilmes, interferindo na qualidade dos alimentos e danos à produção leiteira. O biofilme pode ser entendido como uma comunidade sésil, ligada por um substrato e incorporada por uma matriz de substância polimérica e extracelular. Pensando na importância da formação do biofilme, o estudo teve como objetivo avaliar 42 amostras de microrganismos para verificar a capacidade de formação de biofilme em isolados em casos de mastite. Utilizou-se a metodologia para formação de biofilmes em microplacas de 96 poços, inoculando-se em suspensão de 5 mL de BHI, durante 37° por 24 horas, essas amostras foram levadas a tubos com 10 mL de solução salina 0,9%, e padronizadas em espectrofotômetro. Em cada poço adicionou-se 100 microlitros de TSB, 1% de glicose e 2 microlitros de amostra, já padronizados. Para visualização da formação, as placas foram lavadas três vezes com solução destilada, fixadas com o metanol, coradas com cristal violeta, e lavadas com água destilada, que foram re-solubilizadas em ácido acético para ressuspender, e levados a leitura em espectrofotômetro ($\lambda = 605 \text{ nm}$). Os biofilmes foram classificados como fracamente formadores, fortemente formadores e negativos. O controle negativo foi feito com *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 e o controle positivo *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. A presença de biofilmes em equipamentos de ordenha, derivados de limpezas inadequadas, representa uma presente fonte de contaminação para os animais de ordenha, e para a indústria, interferindo tanto na saúde animal, quanto na qualidade do leite produzido. A eliminação do biofilme é árdua, e vem sendo cada vez mais abordada na literatura devido a sua importância atual.

Palavras-chave: Microrganismos, Amostras, Doenças.

^{1*} Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza. E-mail: maria.artusoo@gmail.com

^{2**} Doutora Médica Veterinária, docente na Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza. Orientadora. E-mail: karina.starikoffl@uffs.edu.br

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura no cenário brasileiro representa destaque na produção láctea mundial, proporcionando alta lucratividade e emprego (NETO, DONADON, 2011). A cadeia produtiva do leite no Brasil se distribui praticamente por todo território, totalizando produção em 2021 da ordem de 35,3 bilhões de litros, com rebanho total de 224,6 milhões, desse total, 39% referente ao leite produzido na região Sul do Brasil (IBGE, 2022).

O leite é considerado um alimento nobre, devido a sua composição rica em proteínas, gordura, carboidratos, sais minerais e vitaminas (ASSIS, FARIA, RODRIGUES, 2007). Nesse mercado produtivo, a qualidade do leite pode ter interferência de diversos fatores, como a higiene da ordenha e utensílios, manejo, alimentação e genética, além da armazenagem e transporte do leite (ANDRADE et al., 2007).

Porém, durante a produção de leite algumas enfermidades podem influenciar negativamente na qualidade do leite, além de acarretar gastos onerosos ao produtor, e uma das principais que causa grande impacto é a mastite (COSTA et al., 2017; LOPES; MANZI, LANGONI, 2018). A mastite bovina, pode ser definida como um complexo de doenças multifatorial, resultado de interações entre hospedeiro, ambiente e os patógenos típicos, sendo denominada como a doença mais prevalente e desafiadora em fazendas leiteiras em todo o mundo (HOGEVEEN; STENEVELD; WOLF; 2019).

A mastite pode ser definida como um processo inflamatório da glândula mamária, que pode ter sua origem de forma fisiológica, traumática, alérgica, metabólica e/ou infecciosa, sendo de caráter complexo e multifatorial, que inclui diversos patógenos, o ambiente e fatores inerentes ao animal (OLIVEIRA et al., 2016). Sua classificação pode ser clínica, em que o animal apresenta alterações visíveis, ou subclínica em que o animal não apresenta sinais clínicos, o que dificulta seu diagnóstico e necessita de atenção redobrada (NETO, DONADON, 2011).

Os patógenos envolvidos na ocorrência da mastite bovina infecciosa apresentam variados fatores de virulência que auxiliam na colonização e infecção da glândula mamária. Os patógenos de maior incidência são as bactérias, destacando *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Mycoplasma bovis* e *Escherichia coli* (CARNEIRO, DOMINGUES, VAZ, 2009; BRITO; ARCURI, 2002).

Uma variedade de microrganismos dispõe de uma capacidade de adesão e aglomeração que resultam nos chamados biofilmes. Esses patógenos podem permanecer dentro da glândula mamária, ocasionando lesões ao epitélio mamário, o que consequentemente leva à diminuição na síntese dos componentes do leite, além da produção de toxinas nocivas ao animal, o que pode agravar o quadro inflamatório (GOMES et al., 2016).

O biofilme representa um complexo ecossistema microbiológico, formado a partir de populações desenvolvidas através de uma única ou mais espécies, englobando as bactérias, fungos e/ou protozoários de maneira isolada ou com combinações, tendo associação com seus produtos extracelulares constituindo uma matriz de polímeros orgânicos que estão aderidos a superfícies bióticas ou abióticas (dispositivos médicos ou equipamentos, por exemplo) (JAY, 2005; KYAW, 2008).

A formação dos biofilmes pode sofrer influência em diversos fatores, desde a morfologia dos microrganismos até a complexidade do ambiente em termos de nutrientes ou presença de agentes químicos e físicos (FONSECA et al., 2011).

Uma vez formados, os biofilmes possuem capacidade de contaminação constante, com liberação de microrganismos patogênicos e/ou deterioradores, a exemplo do *Staphylococcus aureus*, tendo capacidade de comprometer alimentos, além de participar da deterioração de equipamentos (MANSFELD, 2007; FUSTER-VALLS et al., 2008).

Após o biofilme ser estabelecido, esse passa a ser uma intensa fonte de endotoxinas, além de fragmentos de endotoxinas liberados na água. Sendo a remoção dos biofilmes constituídos extremamente difícil, devido a sua forte adesão gerada pelas bactérias de superfície (MEDONLINE, 2008).

A adesão bacteriana e a formação dos biofilmes representam importante obstáculo no âmbito da saúde, estando relacionados com diversas doenças, incluindo a mastite (FERNANDES et al., 2011; MATHEW. RAO., 2014).

Assim, o objetivo da pesquisa foi verificar a capacidade de formação de biofilme em microrganismos isolados de casos de mastite bovina em propriedades leiteiras do Sudoeste do Paraná.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta e dois microrganismos isolados de amostras de leite, de vacas diagnosticadas com mastite, oriundas de dez propriedades leiteiras da Região Sudoeste do Paraná, foram utilizados para a pesquisa. Embora esse estudo tenha se iniciado com microrganismos isolados, o mesmo faz parte de uma pesquisa submetida à Comissão de Ética em Pesquisa da UFFS, sob número de registro 7919110221.

Esses microrganismos foram ressuspensos em 5ml de caldo *Brain Hearth Infusion* (BHI) a 37°C durante 24 horas. Posteriormente as amostras foram transferidas para tubos com 10 mL de solução salina 0,9 % estéril e submetidos a leitura em espectrofotômetro Rayleigh UV-1800 Uv-Vis, considerados padronizados quando as absorbâncias estivessem entre 0,08 e 0,13 Ångstrons em comprimento de onda de 625 nm, o que corresponde a $1 - 2 \times 10^8$ UFC/mL (PEIXOTO, 2019).

As amostras padronizadas foram transferidas para microplacas de poliestireno estéreis com 96 poços com fundo em “U”, sendo feita em triplicatas. Em cada cavidade foi adicionado o volume de 100 (µL) de caldo Triptona Soja (TSB), 1% de glicose e 2 µL de amostra, incubadas a 37°C durante 24 horas. O controle positivo foi feito com uso de cepa formadora de biofilme (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) e controle negativo (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228), além do branco somente com TSB (PEIXOTO, 2019).

Para análise da capacidade dos microrganismos presentes nas amostras de mastite formarem biofilme *in vitro* foi utilizado o método de Peixoto et al. (2019) com modificações. As placas foram lavadas três vezes com 100 µL de água destilada. Adicionou-se metanol durante 15 minutos para fixação. Em seguida, adicionou-se 100 µL de cristal violeta por mais 15 minutos. Depois, lavou-se novamente com água destilada por três vezes, ademais utilizou-se 120 µL de ácido acético glacial para ressuspender. Ao fim, as placas foram submetidas à leitura em espectrofotômetro Rayleigh UV-1800 Uv-Vis® a 605 nm.

O controle negativo foi utilizado como a base em cálculos para definição dos parâmetros a se determinar um isolado formador ou não do biofilme. Deste modo, os isolados foram classificados de acordo com a seguinte regra (OD - Densidade Óptica): $OD \leq OD_c$ = não produtor, $OD_c < OD \leq (2 \times OD_c)$ = fraco produtor, $(2 \times OD_c) < OD \leq (4 \times OD_c)$ = moderado produtor, $(4 \times OD_c) < OD$ = forte produtor. Após a leitura, foi realizada análise das amostras, determinando as frequências relativas de acordo com a metodologia padrão, sendo assim, para considerar formador de biofilme, a absorbância encontrada deveria estar igual ou maior que 1629, para fracamente formador, entre 1363 e 1629, e não formador, igual ou abaixo de 1363 (PEIXOTO, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das 42 amostras utilizadas revelaram que 14 amostras apresentaram fortemente formadoras de biofilme (33%), sete fracamente formadoras (16%) e 21 foram não formadoras de biofilme (50%). Dentre os microrganismos formadores analisados, obteve-se: *Staphylococcus aureus* (47%), *Staphylococcus não aureus* (14%), *Streptococcus agalactiae / dysgalactiae* (23%) e *Streptococcus uberis* (9%).

Os resultados da análise da capacidade dos microrganismos presentes nas amostras de mastite formar biofilme *in vitro* podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 - Amostras de leite com mastite, obtido de vacas de dez propriedades leiteiras que foram formadoras de biofilme

Propriedade	Número de amostras	Identificação	Biofilme
A	3	<i>Staphylococcus não aureus</i> (2)	Forte
B	1	<i>Staphylococcus não aureus</i>	Forte
C	0	-	
D	1	<i>Streptococcus agalactiae/dysgalactiae</i>	Fraco
E	6	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Fraco Forte
F	2	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Fraco Forte
G	8	<i>Staphylococcus aureus</i> (6)	Forte
H	4	<i>Streptococcus uberis</i>	Forte
I	6	<i>Streptococcus uberis</i>	Forte
J	11	<i>Streptococcus agalactiae/dysgalactiae</i>	Fraco

Fonte: Arquivo pessoal

Martins et al (2010) analisaram rebanhos da microrregião de Cuiabá e apontaram que 85,2% de animais com mastite em pelo menos um dos quartos mamários. Quanto a etiologia, os resultados se mostram semelhantes com esta pesquisa, visto que, o *Staphylococcus aureus* (44%) está entre os maiores isolados em casos de mastite (MARTINS, 2010).

Além do mais, dentre as amostras analisadas, o *S. aureus* foi formador de biofilme a partir de cinco animais diferentes nas propriedades analisadas em nossa pesquisa. Podemos correlacionar esse microrganismo como um dos predominantes nas amostras, pois são classificados como os principais agentes causadores de mastite bovina (ZIMERMANN; ARAÚJO, 2017; SILVA, 2023).

O uso da microplaca em nosso trabalho apresentou formação de biofilme, sendo relatado através da literatura, como um dos métodos mais utilizados para detectar o biofilme. Melo (2011) relatou em seu estudo com o uso de microplaca, que em 313 amostras dos isolados de leite de vacas, e do tanque de expansão, 84% obtiveram capacidade para formar biofilme *in vitro*, e 50 (16%) não foram formadores (MELO, 2011).

Um dos fatores relacionados com a visualização predominante de *S. aureus* são seus fatores de virulência que representam um papel muito importante na patogênese da mastite, um deles é a formação do biofilme, pois proporciona sua sobrevivência e aderência em células epiteliais o que contribui na disseminação de bactérias no interior da glândula mamária afetada (CUADROS et al., 2021). É uma vez que os microrganismos se encontram dentro da glândula mamária, ocasionam lesões ao epitélio mamário que leva a diminuição na síntese de componentes do leite, além da produção de toxinas nocivas ao animal que agravam o processo inflamatório (DAMASCENO, SILVA, SANTOS, 2020).

Assim, um dos pontos relacionados com os resultados de *S. aureus* em nossas amostras, pode estar interligado ao fato deste microrganismo ser o principal agente de casos de mastite, como um dos mais isolados em leite cru, além de poder estar presente na pele dos animais, pele humana e nos equipamentos de ordenha (BOHRZ, 2019).

Melo (2011) realizou coleta de leite de 304 vacas que apresentavam mastite, além de amostras do tanque de expansão e ambiente de ordenha. Quando analisadas, 79,4% das amostras foram formadoras de biofilmes *in vitro*. Israel et al. (2020) isolaram 103 estirpes de *Staphylococcus* sp. de amostras derivadas de rebanhos leiteiros com mastite, avaliaram sua capacidade de formar biofilme, e identificaram que 58,3% eram de *Staphylococcus chromogenes* e 19,4% de *S. aureus*, sendo o teste realizado através da aderência em microplaca, obtendo 71,8% de formadoras de biofilme.

A incidência do *S. aureus* como um dos agentes mais encontrados em amostras de rebanhos leiteiros mostra-se de grande importância epidemiológica e clínica em casos de mastite quando ligadas a falhas no manejo de ordenha, bem como em prevenção e diagnóstico da enfermidade de origem contagiosa em rebanhos, visto que, a transmissão dos agentes causadores acontece, em sua maioria, durante a ordenha já que o reservatório dos microrganismos são as glândulas mamárias (ANDRADE, HARTMANN, MASSON, 2009).

Salina et al. (2020) realizaram coletas de leite para obter 100 cepas de *Staphylococcus* não *aureus* (NAS) de 749 amostras de leite bovino, e obtiveram um total de 41% de formadoras de biofilme.

Já com menor frequência na formação de biofilme foram os *Streptococcus* sp. (32%), que estruturam um grupo de microrganismos com diversas espécies e graus patogênicos e virulentos (SALINA, 2020). O *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis*, categorizados como ambientais, estão presentes na microbiota intestinal e no ambiente (OLIVEIRA et al., 2016).

Damasceno, Silva, Santos (2020) realizaram a coleta de 27 animais durante fase de lactação, e analisou a formação de biofilme em dezoito amostras de leite com mastite, e encontrou a formação através dos *Streptococcus* que foram formadores de biofilme em 12,5% das amostras.

Em outro estudo foram analisadas 232 amostras de microrganismos de bactérias isoladas do leite e seus derivados, encontrando 39 cepas de *Streptococcus* sp. Destas, 4,08% apresentaram formação de biofilme (SIQUEIRA et al., 2021).

Orsi et al. (2016) analisaram 89 amostras para verificar a formação de biofilme de *Streptococcus uberis*. Em seu resultado obteve 55 isolados de *S. uberis* como não formadores, 13 (10,92%) apresentaram fraca formação, 30 (25,21%) apresentaram capacidade moderada e 20 (16,80%) derivados de mastite clínica apresentaram forte capacidade para biofilme.

Essa presença de microrganismos em propriedades produtoras pode acarretar na perda da qualidade do leite, esses problemas estão correlacionados com a falha da higienização de equipamentos e ordenha, latões e em tanques de expansão, o que pode acarretar na formação de biofilmes (OLIVEIRA, 2011).

O isolamento de cepas produtoras de biofilme no equipamento de ordenha e no ambiente sugere um alto risco de contaminação do leite cru, o que representa riscos à saúde tanto dos humanos quanto dos próprios animais (SILVESTRE et al., 2017).

Dessa forma, é essencial realizar a correta higienização dos tetos, com o uso de pré e pós-dipping, além da higienização do ambiente. Essas ações, por sua vez, possuem a capacidade de reduzir a formação dos biofilmes, que se mostram como um problema constante (SALINA, 2016).

4 CONCLUSÃO

Nas condições deste estudo, a prevalência de biofilmes, nas amostras de leite de vacas com mastite em propriedades do Sudoeste do Paraná, indica que é possível observar que há bactérias que se aderem à superfície e formam os biofilmes. Os microrganismos formadores encontrados foram das espécies *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. Dentre eles, o *Staphylococcus aureus* se mostrou o microrganismo de maior prevalência nas amostras coletadas e analisadas, ressaltando a importância de medidas eficazes para a eliminação desses potenciais agentes das propriedades leiteiras.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, U. V. C.; HARTMANN, W.; MASSON, M. L. Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. **ARS Veterinária**. v. 25; nº. 3; p. 129- 135, 2009.

ANDRADE, L. M.; FARO, L. E.; CARDOSO, V. L.; ALBUQUERQUE, L. G. A.; CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F. Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 2, p.343-349, 2007.

ASSIS, E.M de; FARIA, M.G; RODRIGUES, F.C. Qualidade do leite bovino e efeitos de seu consumo sobre a saúde. **Higiene alimentar**. v.21, nº156, p.47-50, 2007.

BRITO, J.R.F.; BRITO, M.A.V; ARCURI, E.F. Como reconhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos. Juiz de Fora: **Embrapa gado de Leite**. Embrapa Gado de Leite: Circular Técnico, 70.pág.8, 2002.

CARNEIRO, D.M.V.F; DOMINGUES, P.F; VAZ, A.K. Imunidade inata da glândula mamária bovina: resposta à infecção. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1934-1943, 2009. DOI: 10.1590/S0103- 84782009005000106

COSTA, H. N. et al.. Estimativa das perdas de produção leiteira em vacas mestiças Holandês x Zebu com mastite subclínica baseada em duas metodologias de análise. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 3, p. 579–586, jun. 2017.

CUADROS, G. M. et al. Formadores de biofilme de *Staphylococcus aureus*: sua importância na mastite ovina / *Staphylococcus aureus* biofilm formators: its importance in ovine mastites. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 4408–4423, 2021. DOI: 10.34188/bjaerv4n3-125.

DAMASCENO, V. S.; SILVA, F. M.; SANTOS, H. C. de A. S. dos. Análise do perfil microbiológico de agentes causadores de mastite bovina e sua relação com a qualidade do leite em uma fazenda do Sul de Minas Gerais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 91409–91421, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n11-522.

FERNANDES, J. B. C et al. *Escherichia coli* de mastite clínica: sorotipos e fatores de virulência. **Journal Veterinario Diag Invest**.v. 23, p. 1146-1152, 2011. DOI: 10.1177/1040638711425581. PMID: 22362795.

FONSECA, A.P, et al. Biofilms in wounds: A unsolved problem? EWMA. **Journal**, v. 11, n. 2, p. 10-23, 2011.

FUSTER-VALLS, N. et al. Effect of different environmental conditions on the bacteria survival on stainless steel surfaces. **Food Control**, v. 19, n. 3, p. 308-314, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.04.013>.

GOMES, F et al. Doença/patogenicidade da mastite bovina: evidências do papel potencial dos biofilmes microbianos, **Patógenos e Doenças**, v. 74, n 3, abril de 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw006>

HOGVEEN, H.; STENEVELD, W.; WOLF, C.A As doenças de produção reduzem a eficiência da produção de laticínios: uma revisão dos resultados, métodos e abordagens em relação à economia da mastite. **Revisão Anual da Economia dos Recursos**, v. 11, p. 289-312, 2019. DOI: 10.1146/annurev-resource-100518-093954.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário 2021**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/produção-agropecuaria/leite/br>

ISRAEL, L.F.S et al. Produção de biofilme por *Staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina, em rebanhos leiteiros do estado do Acre, Brasil, e suas implicações. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** , v. 74, p. 563-575, 2020.

JAY, J.M. Biofilmes. Microbiologia de Alimentos. 6 ed.Porto Alegre: **Artmed**. Porto Alegre, 2005.

KYAW, C.M. **Biofilmes Microbianos**. Universidade de Brasília. Brasília, 2008.

LOPES, B.C., MANZI, M.P; LANGONI, H. Etiologia das mastites: pesquisa de microrganismos da classe Mollicutes. **Veterinária e Zootecnia**, v. 25, n.2, p.173-179, 2018. DOI: 10.35172/rvz.2018.v25.41.

MANSFELD, F. The interaction of bacteria and metal surfaces. **Electrochimica Acta**, v. 52, n. 27, p. 7670-7680, 2007. DOI: 10.1016/j.electacta.2007.05.006

MARTINS, R. P et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.1, p.181-187, 2010.

MATHEW, A. M. A. J. RAO, J. V. et al. Influência dos componentes do leite no estabelecimento de infecções de mastite bacteriana mediadas por biofilme em bovinos: uma abordagem fatorial fracionária. **Research in Veterinary Science**, v. 96, p. 25-27, 2014.

MEDONLINE. Biofilme: um velho problema, uma nova batalha. **Revista Virtual de Medicina**, 2008.

MELO, P. C. **Estudo epidemiológico, genotípico e fenotípico de estirpes de *Staphylococcus aureus* produtoras de biofilmes isoladas do ambiente de ordenha e de casos de mastite bovina**. 2011. Tese (Doutorado em ciências agrárias e veterinárias). Universidade Estadual Paulista, UNESP, 2011.

NETO, J.M.F.A.; DONADON, C.C. Cinética de marcadores de estresse oxidativo para avaliação de “overreaching” induzido pelo exercício físico exaustivo. **Revista Digital**, v. 12, n. 162, 2011.

OLIVEIRA, M.M. Controle de biofilmes bacterianos: *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* enteropatogênica. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2011.

OLIVEIRA, G. C et al. Perfil microbiológico de *Streptococcus* spp. como agentes causadores de mastites clínicas em diversas regiões do Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV SP**, v. 14, n. 3, p. 74 - 74, 2016.

ORSI, A.M et al. Capacidade de formação de biofilme de *Streptococcus uberis* causador de mastite bovina. 2016, São Paulo. **Anais pirassununga**, Universidade de São Paulo, 2016. DOI: <https://posvnp.org/simposio-2016/>.

PEIXOTO, A.F et al. Produção de biofilme e susceptibilidade in vitro a desinfetantes de *Staphylococcus coagulase positiva* isolados de leite bovino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, p. 1692, 2019.

SALINA, A. et al.. Detection of icaA, icaD, and bap genes and biofilm production in *Staphylococcus aureus* and non-aureus staphylococci isolated from subclinical and clinical bovine mastitis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 3, p. 1034–1038, 2020.

SILVA, M.R.A. Potencial de formação de biofilme em amostras de isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*. **Repositório Institucional da UFPB**, Paraíba, 2023.

SILVESTRE, G.B.R et al. Avaliação da formação de biofilme por cepas bacterianas isoladas de equipamentos de ordenha e amostras de leite de vacas com mastite. **Semina: Ciências Agrárias** , v. 38, n. 4, pág. 1887-1895, 2017.

SIQUEIRA, I.N. et al. Bactérias formadoras de biofilmes na indústria de laticínios: Uma breve Revisão. **Ensaio e Ciências Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 25, n. 4, p. 491-500, 2021.

ZIMERMANN, K. F.; ARAUJO, M.E.M. Mastite bovina: agentes etiológicos e susceptibilidade a antimicrobianos. **Revista Campo Digital**, v. 12, n.1, 2017.

AGRADECIMENTOS

Quando me pego pensando no passado, quando me pego pensando que fazem cinco anos do início da graduação, e que cada vez mais a etapa final se aproxima, o sentimento que se torna real é indescritível, finalizar uma trajetória tão linda, com muitas alegrias e desafios, todos vividos da maneira possível.

Sei que nada disso teria sido alcançado sem o apoio da minha família, que sempre acreditou que tudo que eu desejasse, poderia ser conquistado, basta correr atrás de nossos sonhos.

As minhas amigas da cidade natal, que o tempo fez com que nos encontrássemos somente em datas especiais, mas as quais nunca saíram do meu lado, e as quais eu tenho o maior orgulho de ter comigo a tantos anos.

Aos meus amigos da faculdade, sem eles a trajetória teria sido muito mais árdua, sem graça e solitária. Agradeço por quem ficou ao meu lado durante todos esses anos, quando vocês no futuro concluírem todos os seus sonhos, saibam que estarei em algum lugar torcendo por vocês.

As minhas amigas do *timshouse*, que tornaram a minha morada em Realeza muito mais leve e feliz, com todos os filmes, panelas de pipoca e apoio em todos os momentos necessários, juntamente com o tim, o mascote da casa que destrói qualquer coisa ao seu alcance.

A minha orientadora, por todos os ensinamentos ao longo dos anos, por sempre me apoiar e me entender, por ter me auxiliado nesse projeto que se tornou algo incrível.

Ao Professor Lucif, o maior flamenguista que tive a honra de conhecer, por todos os ensinamentos ao longo de todos esses anos, sei que levaremos cada palavra ao longo da vida, e quando olharmos para trás na trajetória, terá sua marca.

A Prpfa. Adalgiza, por ter sido minha tutora por uma parte da graduação, e por todo o auxílio sempre que foi necessário.

Sem vocês, a trajetória pela universidade não teria sido tão linda.

Maria.