

AHOH-119 Rev. Cientif. FCV-LUZ, XXXIII, SE, 217-218, 2023, <https://doi.org/10.52973/rcfcv-wbc078>**Molecular characterization and therapeutic insights into biofilm positive *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical mastitis in dairy buffaloes****Muhammad Ijaz¹, Muhammad Umar Javed¹,
Arslan Ahmed¹**¹Department of Veterinary Medicine, University of Veterinary and Animal Sciences, Lahore Pakistan*Corresponding author: Ijaz, Muhammad (mijaz@uvas.edu.pk).**ABSTRACT**

To investigate the prevalence and molecular characterization of biofilm-positive *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) isolates from a total of 384 quarter milk samples of buffaloes from 25 dairy farms in Faisalabad and Rawalpindi, Pakistan, a convenient sampling method was used. The sampling was performed per the National Mastitis Council, USA standard procedure. The study also highlighted the *in vitro* resistance pattern of biofilm-positive *S. aureus* and the role of commonly used NSAIDs and non-antibiotics in modulating the *S. aureus*-associated antibiotic resistance. Based on the California mastitis test, the results depicted the prevalence of subclinical mastitis in buffaloes as 50.26% (193/384). In comparison, the prevalence of *S. aureus* was noted to be 38.02%, out of which 25.79% isolates were biofilm-positive based on the Congo red agar, microtitre plate test, and presence of the *icaA* gene. Phylogenetic analysis of the studied isolates showed a high similarity with Egyptian and Indian *icaA*-positive *S. aureus* isolates. The findings of antibiogram profiling showed that biofilm-positive isolates showed higher resistance against oxacillin (87.5%), followed by trimethoprim/ sulfamethoxazole (79.16%), gentamicin (75%), oxytetracycline (66.66%), and cefoxitin (62.5%), while fusidic acid and linezolid were among the least resistant antibiotics

Caracterización molecular y conocimientos terapéuticos sobre *Staphylococcus aureus* positivo a biopelículas aislado de mastitis subclínica en búfalas lecheras

**Muhammad Ijaz¹, Muhammad Umar Javed¹,
Arslan Ahmed¹**¹Departamento de Medicina Veterinaria, Universidad de Ciencias Veterinarias y Animales, Lahore Pakistán*Autor de correspondencia: Ijaz, Muhammad (mijaz@uvas.edu.pk).**RESUMEN**

El presente estudio tuvo como objetivo investigar la prevalencia y caracterización molecular de aislamientos de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) positivos para biopelículas de un total de 384 muestras de cuartos de leche de búfalas de 25 granjas lecheras del distrito de Faisalabad y Rawalpindi, Pakistán, utilizando un método de muestreo conveniente. El muestreo se realizó según el procedimiento estándar del Consejo Nacional de Mastitis, EE. UU. El estudio también destacó el patrón de resistencia *in vitro* mostrado por *S. aureus* con biopelículas positivas y el papel de los AINE y los no antibióticos de uso común para modular la resistencia a los antibióticos asociada a *S. aureus*. Los resultados mostraron que la prevalencia de mastitis subclínica en búfalos, según la prueba de mastitis de California, era del 50,26% (193/384), mientras que la prevalencia de *S. aureus* era del 38,02%, de los cuales el 25,79% de los aislados eran biofilm positivos. basado en agar rojo Congo, prueba en placa de microtitulación y presencia del gen *icaA*. El análisis filogenético de los aislados estudiados mostró una alta similitud con los aislados de *S. aureus* positivos para *icaA* egipcios e indios. Los hallazgos del perfil de antibiograma mostraron que los aislados positivos para biopelículas mostraron mayor resistencia contra oxacilina (87,5%), seguida de trimetoprim/sulfametoxazol (79,16%), gentamicina

against biofilm-positive isolates. The combinations of resistant antibiotics with non-antibiotics were investigated using the well diffusion method and checkerboard assay. Antimicrobial effects of non-antibiotics against study isolates accessed through the well diffusion method showed higher inhibition zones for meloxicam followed by flunixin, ketoprofen, and ivermectin. The combinations of amoxicillin/meloxicam, cotrimoxazole/flunixin, cotrimoxazole/ ketoprofen, and gentamicin/flunixin on well diffusion method, and cotrimoxazole/ flunixin, amoxicillin/ketoprofen and gentamicin/flunixin on checkerboard assay revealed synergistic interactions. The study concluded that biofilm-positive *S. aureus* is an emerging and prevailing cause of bubaline mastitis in dairy farms of the study area. The increasing antibiotic resistance of *S. aureus* can be modulated by combining the resistant antibiotics with NSAIDs, especially flunixin and ketoprofen, in *in vitro* trials. However, further research on *in vivo* trials needs to be conducted to evaluate the actual efficacy of these combinations in animal models.

Keywords: antibiotic resistance biofilm, bovine mastitis, resistance modulation, *Staphylococcus aureus*.

(75%), oxitetraciclina (66,66%) y cefoxitina (62,5%), mientras que el ácido fusídico y el linezolid se encontraban entre los antibióticos menos resistentes contra los aislados positivos para biopelículas. Las combinaciones de antibióticos resistentes con no antibióticos se investigaron utilizando el método de difusión de pozo y el ensayo de tablero de damas. Los efectos antimicrobianos de los no antibióticos contra los aislados del estudio a los que se accedió mediante el método de difusión de pozo mostraron zonas de inhibición más altas para el meloxicam seguido de flunixin, ketoprofeno e ivermectina. Las combinaciones de amoxicilina/meloxicam, cotrimoxazol/flunixin, cotrimoxazol/ketoprofeno y gentamicina/flunixin en el método de difusión de pozo y cotrimoxazol/flunixin, amoxicilina/ketoprofeno y gentamicina/flunixin en el ensayo de tablero de damas revelaron interacciones sinérgicas. El estudio concluyó que *S. aureus* positivo a biopelículas es una causa emergente y predominante de mastitis bubalina en las granjas lecheras del área de estudio. La creciente resistencia a los antibióticos de *S. aureus* puede modularse combinando los antibióticos resistentes con AINE, especialmente flunixin y ketoprofeno, en ensayos *in vitro*. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones en ensayos *in vivo* para evaluar la eficacia real de estas combinaciones en modelos animales.

Palabras clave: biofilm de resistencia a antibióticos, mastitis bovina, modulación de resistencia, *Staphylococcus aureus*.