نشریه تازه ها در میکروب‌شناسی دامپزشکی
وبگاه: nfvm.uoz.ac.ir
دو فصلنامه - شاپا چاپی: ۲۶۴۵-۴۴۹۱ شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۰۰۴
دوره ۷، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۳، صفحات ۵۳- ٤٦

پروفایل‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و بیوتیپینگ *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از لارو پشه: هشداری برای نظارت بر سلامت عمومی

پریسا حسنین*[۱]، سیامک یاری[۲]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران.

دریافت مقاله: ۱۹ فروردین ۱۴۰۳، بازنگری: ۳۰ فروردین ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۰۱ اردیبهشت ۱۴۰۳

10.22034/nfvm. 2024. 451328. 1235

چکیده

تهدید فزاینده سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک یک چالش جدی برای سلامت عمومی جهانی است. هدف از انجام این مطالعه بررسی میزان مقاومت جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده از لارو پشه کولکس در برکه‌های اب شهرستان زابل بود. تعداد ۱۵۰ نمونه که هر نمونه حاوی ۲۰ لارو پشه از ۱۰ برکه در فصول بهار و تابستان از مناطق شهرستان زابل جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و شستشو داده شد سپس ۵ سی‌سی PBS ۱ درصد به آنها اضافه شد و توسط همزن هموژنیزه گردید. سپس رقت‌سازی سریالی انجام و در محیط‌های کشت بردپارکر و مانیتول سالت آگار کشت داده شد. کلنی‌های رشد کرده با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی رایج میکروب‌شناسی تأیید هویت شد. بیوتیپینگ جدایه‌ها با استفاده از روش پیشنهادی Devriese انجام شد. مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار در دیسک انجام شد. بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها به آمیکاسین اگراسیلین و آمپی‌سیلین و بیشترین میزان حساسیت مربوط به سیپروفلوکساسین فورازولیدون و اریترومایسین بود. تجزیه و تحلیل بیوتیپینگ نشان داد که ۴۰ درصد متعلق به اکوار انسانی، ۲۰ درصد به اکوار مرغ و ۵ درصد به اکوار گاوی بود. علاوه بر این، ۱۰ ایزوله بیوتایپ‌های غیر اختصاصی (NHS) را نشان دادند، در حالی که ۲۵ ایزوله با استفاده از زوش مورد مطالعه قابل تایپینگ نبودند. این مطالعه بر نقش بالقوه این ناقلین در انتشار پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در جوامع تأکید و اهمیت این بیماری را برجسته می‌کند.

واژگان کلیدی: *مقاومت آنتی‌بیوتیکی، استافیلوکوکوس اورئوس، لارو پشه، نظارت بر بهداشت عمومی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: p.hasanein@uoz.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر، چشم‌انداز بهداشت عمومی جهانی به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر تهدید فزاینده مقاومت آنتی‌بیوتیکی قرار گرفته است، بحرانی که تهدید به تضعیف اثربخشی روش‌های درمانی در پزشکی مدرن شده است (۱). در میان هزاران باکتری بیماری‌زا که به این چالش کمک می‌کنند، *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌عنوان یک دشمن به‌خصوص قدرتمند است. *استافیلوکوکوس اورئوس* که به خاطر توانایی آن در تکامل سریع و سازگاری با محیط‌های مختلف شناخته شده است، تهدید قابل توجهی برای بیماری‌های عفونی منتشره در جامعه و محیط‌های بیمارستانی است و باعث طیف گسترده‌ای از عفونت‌ها از آبسه‌های پوستی جزئی تا بیماری‌های سیستمیک تهدیدکننده زندگی می‌شود (۲).

ظهور و گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در *استافیلوکوکوس اورئوس* این تهدید را بیشتر کرده است، درمان‌های قابل اعتماد را بی‌اثر می‌کند و نیاز به جستجوی استراتژی‌های جایگزین برای مبارزه با این پاتوژن انعطاف‌پذیر دارد (۳). در حالی که توجه و تلاش‌های زیادی برای درک و کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی انجام شده است، مطالعات اخیر شروع به درک و نقش مخازن زیست محیطی در انتشار سویه‌های مقاوم کرده است (۴). یکی از این مخازن برکه‌های حاوی لارو پشه کولکس است که معمولاً در مخازن آب‌های ساکن در مناطق مختلف جغرافیایی یافت می‌شود. در حالی که به‌طور سنتی به‌عنوان ناقلین برای انتقال عوامل عفونی به انسان شناخته می‌شود، این لارو ممکن است مجموعه‌ای متنوع از میکروارگانیسم‌ها، از جمله باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک مانند استافیلوکوکوس اورئوس را در خود جای دهد (۵، ۶). درک پویایی جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس در لارو پشه و پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها برای روشن شدن مسیرهای بالقوه انتقال و طراحی مداخلات هدفمند بهداشت عمومی بسیار مهم است (۷، ۸). وقوع گسترده استافیلوکوکوس اورئوس در هر دو محیط بالینی و جامعه بر اهمیت درک محیط زیست و اپیدمیولوژی آن برای توسعه استراتژی‌های مؤثر برای پیشگیری و کنترل تأکید می‌کند (۹). مخازن زیست محیطی، مانند آب‌های ساکن لارو پشه، نشان‌دهنده نقاط بالقوه برای کسب و انتشار باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک است (۱۰). لارو پشه به‌عنوان یک ارتباط بین اکوسیستم‌های آبزی و زمینی، تعامل با جوامع میکروبی متنوع و تسهیل تبادل مواد ژنتیکی، از جمله ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی عمل می کند (۱۱). در مقابل این زمینه، مطالعه حاضر با هدف بررسی پروفایل‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ویژگی‌های بیوتیپینگ جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از لارو پشه Culex ساکن در برکه‌های آبی زابل انجام شد.

از طریق تجزیه و تحلیل جامع پروفایل‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ویژگی‌های نمونه‌سازی زیستی، این مطالعه با هدف کمک به درک ما از تعامل پیچیده بین مخازن زیست محیطی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و بهداشت عمومی است. با روشن شدن نقش لارو پشه در انتشار سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک، به دنبال اطلاع رسانی مداخلات هدفمند با هدف کاهش این تهدید در حال ظهور و حفاظت از سلامت عمومی جهانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس:

تعداد ۱۵۰ نمونه حاوی ۲۰ لارو پشه Culex از ۲۰ آبگیر آب ساکن واقع درشهرستان زابل در فصول بهار و تابستان جمع‌آوری شد. لاروها با استفاده از تله‌های مخصوص استاندارد قرار داده شده در مکان‌های استراتژیک در آب‌ها جمع‌آوری و به ظروف استریل منتقل و برای تجزیه و تحلیل بیشتر به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس در آزمایشگاه لاروها به‌طور کامل با آب مقطر استریل شستشو داده شدند تا هر گونه آلاینده سطحی را از بین ببرند (۱۲، ۱۳). برای جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس، تعداد ۲۰ لارو پشه به لوله‌های استریل حاوی ۵

میلی‌لیتر محلول سالین استریل (PBS ٪1) منتقل شد و در زیر هود با استفاده از یک همزن استریل هموژنیزه شد. سپس مخلوط یک‌دست‌شده حاصل به‌طور سریالی رقت‌سازی شد واز رقت مناسب بر روی محیط انتخابی برد پارکر و مانیتول سالت آگار برای جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس منتقل شد (۱۳). ازمحیط کشت مانیتول آگار (MSA) و محیط کشت برد پارکر آگار به‌دلیل خواص انتخابی آنها به‌عنوان محیط‌های جداسازی اولیه مورد استفاده قرار گرفت که امکان رشد استافیلوکوکوس اورئوس را در حالی که مانع رشد باکتری‌های دیگر می‌شود، امکان‌پذیر می‌سازد. گرمخانه‌گذاری به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد (۱۴).

سپس پرگنه‌هایی زردرنگ و تخمیر مانیتول و سیاه‌رنگ بر روی محیط بردپارکر، برای تأیید نهایی مورد آزمایشات جون رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های کاتالاز و کواگولاز و دی ان ا آز قرار گرفتند. کاتالاز مثبت، کواگولاز مثبت، کوکسی گرم مثبت نشان دهنده استافیلوکوکوس اورئوس در نظر گرفته شد (۱۵).

تست حساسیت آنتی‌بیوتیک: ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس طبق دستورالعمل CLSI و روش دیسک انتشاری بر روی محیط مولر هینتون آگار شرکت ایبرسکو با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شرکت پادتن طب، ایران تتراسایکلین (TET)، جنتامایسین (GEN)، اریترومایسین (ERY)، امیکاسین (AK)، آمپی‌سیلین (AM)، ریفامپیسین (RIF)، اگزاسیلین (OX) و سفوکسیتین (CFX) و سیپروفلوکساسین (CIP) انجام شد (۱۶، ۱۷). برای انجام تست حساسیت ابتدا یک کلنی از یک کشت خالص شبانه از هر جدایه در نرمال سالین استریل (۰/۸۵ درصد) در لوله‌های آزمایش با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند معادل 1×10^8 سلول تهیه شد. سپس سوسپاسیون باکتریایی به‌طور یکنواخت در پلیت مولر هینتون آگار با استفاده از سواب استریل کشت داده شد و دردمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و قطر منطقه مهار اندازه‌گیری شد و نتایج بر اساس مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی بالینی تفسیر شد (۱۶، ۱۷).

بیوتیپینگ ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس:

بیوتیپینگ ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس به روش پیشنهادی Devriese (۱۹۸۴) انجام شد (۱۸). این روش متکی به چهار تکنیک بیوشیمیایی متمایز است: تشخیص فعالیت استافیلوکیناز، فعالیت β همولیزین، ویژگی‌های رشد در آگار کریستال ویوله و فعالیت کواگولاز در پلاسمای گاوی. با استفاده از این چارچوب، سویه‌های تحت بررسی به پنج اکووار مخصوص میزبان (HS) شامل انواع β+ و β انسان، مرغ، گوسفند و گاو، همراه با پنج اکووار غیر اختصاصی (NHS) تقسیم شد (جدول ۱).

جدول ۱- طرح بیوتایپ Devriese توسط Isigidi و همکاران اصلاح شد (۱۹).

بیوتیپ یا اکووار	استافیلوکیناز	بتا همولایزین	انعقاد پلاسمای گاوی بین ۲ تا ۶ ساعت	نوع رشد در محیط کریستال ویولت	پروتئین A
انسانی	+	±	–	A/C	
گاوی	–	+	+	A	
گوسفندی	–	+	+	C	
مرغی	–	–	–	A	–
شبه مرغی	–	–	–	A	+
NHS 1	+	–	+	A	
NHS 2	+	+	+	A	
NHS 3	–	+	–	A	
NHS 4	–	+	–	C	
NHS 5	–	–	–	C	

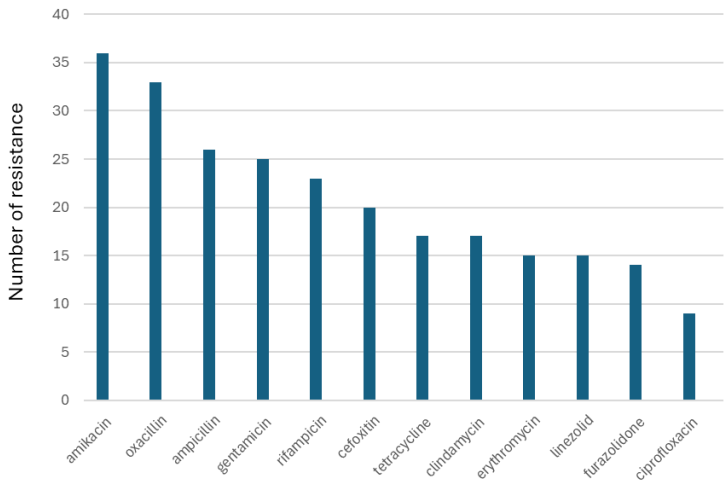
[a]Type of growth on crystal violet agar: A—yellow, C—purple; NHS—non-host-specific

سنجش تولید فیبرینولیزین توسط باکتری‌ها با استفاده از محیط کشت نوترینت براث با ۳ درصد آگار مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۸). سویه *S . aureus* ATCC ۲۵۹۲۳ به‌عنوان شاهد مثبت مورد استفاده قرار گرفت. برای تولید کواگولاز، روش زیر دنبال شد: ابتدا پنج قطره از کشت آبگوشت شبانه *S. aureus* به لوله‌های حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر پلاسمای گاو ۱ به ۵ رقیق‌شده اضافه شد. سپس از لوله‌ها در یک انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۶ ساعت گرماگذاری شد و در هر یک ساعت تشکیل لخته قابل مشاهده شدند (۱۹). برآورد پروتئین A بر اساس پروتکل مشخص شده توسط Kerr و همکاران انجام شد (۲۰). ارزیابی واکنش بنفش بلوری با استفاده از روش مایر انجام شد (۲۱).

نتایج

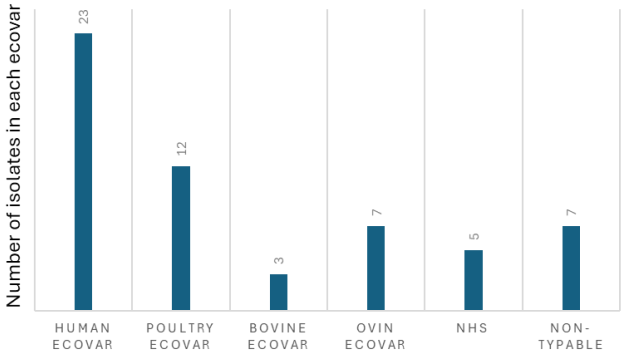
جداسازی و شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس:

در مجموع ۵۷ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از لارو پشه Culex جمع‌آوری شده از استخرهای آبی زابل ایران توسط تست هاس رایج بیوشیمیایی تأیید هویت شد. بر اساس نتایج جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین مقاومت را به نسبت به آمیکاسین (۶۵/۱۵ درصد)، اگزاسیلین (۵۷/۸۹ درصد)، آمپی‌سیلین (۴۵/۶۱ درصد)، ریفامپین (۴۰/۳۵ درصد)، سفاکسیتین (۳۵/۰۸ درصد) نشان دادند. بیشترین حساسیت جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به‌ترتیب به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین (۸۴/۲۲ درصد)، فورازولیدون (۷۵/۴۳ درصد)، لینه زولید (۷۳/۶۹ درصد)، اریترومایسین (۷۳/۶۹ درصد)، کلیندامایسین (۷۰/۱۸ درصد) تتراسیکلین (۷۰/۱۸ درصد) بود. نمودار ۱ میزان هشدار دهنده مقاومت را به آنتی‌بیوتیک‌های رایج نشان می‌دهد. نمودار ۲ ارزیابی پروفایل‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی را در برابر آنتی‌بیوتیک‌های رایج نشان می‌دهد.



نمودار۱- پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس

تجزیه و تحلیل نمونه شماره ۲ نشان داد که بیشتر جدایه‌ها ۴۰ درصد را به‌عنوان متعلق به اکوار انسانی، ۲۰ درصد به اکوار مرغ و ۵ درصد به اکوار گاو شناسایی می‌کند. علاوه بر این، ۱۰ سویه بیوتیپ‌های غیر اختصاصی (NHS) را نشان می‌دهند، در حالی که ۲۵ سویه از طریق این روش در برابر تایپ مقاومت می‌کنند.



نمودار ۲- پروفایل بیوتیپینگ جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه بینش ارزشمندی در مورد شیوع، حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بیوتیپ‌های جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بازیابی شده از لارو پشه کولکس در زابل ارائه می‌دهد. جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس از لارو پشه، نقش بالقوه این ناقلین را در پناه دادن و انتشار باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در محیط‌های آبی برجسته می‌کند (۲۲). علاوه بر این، شیوع بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان جدایه‌ها بر نیاز فوری به اقدامات نظارتی و کنترلی برای جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم در محیط بالینی و محیطی تاکید دارد (۲۳). الگوهای مقاومت مشاهده شده در میان جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با روند جهانی که نشان‌دهنده انتشار گسترده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جمعیت‌های باکتریایی است، سازگار است (۲۴، ۲۵). گزارش شده است که سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به تتراسایکلین و جنتامایسین، یکی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد استفاده در درمان‌های بالینی، مقاومت نشان می‌دهند (۲۶). ظهور سویه‌های مقاوم به چند دارو گزینه‌های درمان را برای کادر بهداشت و سلامت پیچیده‌تر کرده و بر اهمیت استفاده عاقلانه از آنتی‌بیوتیک‌ها و پرهیز از استفاده بی‌رویه و خود درمانی تاکید می‌کند (۲۳). تجزیه و تحلیل بیوتیپینگ، پروفایل‌های فنوتیپی متمایزی را در میان جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که خود نشان‌دهنده تفاوت‌های بالقوه در منشاء زیست محیطی یا اکولوژیکی و ارتباطات بین میزبان آنها است. غالب بودن جدایه‌های سرووار انسانی نشان‌دهنده ارتباط احتمالی با فعالیت‌های انسانی و آلودگی منابع با منشأ انسانی دارد. با این حال، حضور جدایه‌های سرووار مرغی و گوسفندی، تنوع مخازن بالقوه برای استافیلوکوکوس اورئوس در محیط زیست، از جمله پرندگان و دام‌ها را برجسته می‌کند (۲۷). پویایی زیست محیطی باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در زیستگاه‌های آبزی ساکن لارو پشه تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله شرایط محیطی، تعاملات میکروبی و فعالیت‌های انسانی است (۲۸). لارو پشه به‌عنوان یک ارتباط بین اکوسیستم‌های آبزی و زمینی، تسهیل تبادل جوامع میکروبی و مواد ژنتیکی می‌باشد (۲۹). علاوه بر این، وجود باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیک در آب‌های ناشی از زه‌آب کشاورزی یا تخلیه فاضلاب ممکن است به انتخاب و نگهداری ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جمعیت‌های باکتریایی کمک کند (۳۰، ۳۱). یافته‌های این مطالعه پیامدهای مهمی برای بهداشت عمومی و مدیریت محیط زیست در زابل و مناطق مشابه با چالش‌های زیست محیطی مشابه دارد. استراتژی‌های کنترل گسترش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باید شامل نظارت بیشتر بر مخازن زیست محیطی، اجرای برنامه‌های نظارت ضد میکروبی و بهبود شیوه‌های تصفیه فاضلاب برای به حداقل رساندن انتشار باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیک به محیط زیست باشد. علاوه بر این، تلاش‌های تحقیقاتی بین رشته‌ای یکپارچه‌سازی

میکروب‌شناسی، محیط زیست و اپیدمیولوژی برای درک تعاملات پیچیده‌ای که باعث ظهور و انتشار مقاومت نتی‌بیوتیکی در اکوسیستم‌های متنوع می‌شود، ضروری است.

در نتیجه، این مطالعه شیوع سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک مرتبط با لارو پشه کولکس در زابل را برجسته می‌کند و بینش‌هایی را در مورد پروفایل‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بیوتیپ‌های آنها ارائه می‌دهد. این یافته‌ها بر اهمیت تلاش‌های مداوم نظارت و کاهش برای مقابله با تهدید بهداشت عمومی ناشی از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مخازن زیست محیطی تاکید می‌کند و بر نیاز به رویکردهای مشترک برای مبارزه با این چالش جهانی تاکید می‌کند.

References

1- Akram F, Imtiaz M, Ikram ul Haq I. Emergent crisis of antibiotic resistance: A silent pandemic threat to 21st century. *Microbial Pathogenesis*. 2023; 174.

2- Liu GY. Molecular pathogenesis of Staphylococcus aureus infection. *Pediatr Res*. 2009; 65(5): 71-77.

3- Abebe AA, Birhanu AG. Methicillin Resistant Staphylococcus aureus: Molecular Mechanisms Underlying Drug Resistance Development and Novel Strategies to Combat. *Infect Drug Resist*. 2023; 16: 7641-7662.

4- Salam MA, Al-Amin MY, Salam MT, Pawar JS, Akhter N, Rabaan AA, *et al.* Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare*. 2023; 11(13): 1946.

5- Berglund B. Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. *Infect Ecol Epidemiol*. 2015; 5: 28564.

6- Nicoletti M. Three scenarios in insect-borne diseases. Insect-Borne Diseases in the 21st Century. 2020: 99–251.

7- Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*. 2021;10(10): 1310.

8- Howden BP, Giulieri SG, Wong Fok Lung T, Baines SL, Sharkey LK, Lee JYH, *et al.* Staphylococcus aureus host interactions and adaptation. *Nat Rev Microbiol*. 2023; 21(6): 380-395.

9- Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 107.

10- Abia Akebe LK, Sibanda T, Selvarajan R, El-Liethy MA and Kamika I. Editorial: Environmental Reservoirs of Antibiotic Resistance Determinants: A Ticking Time Bomb for the Future Emergence of Super-Bugs of Environmental and Public Health Importance. *Front Environ Sci*. 2022; 10: 941847.

11- Duguma D, Rugman-Jones P, Kaufman MG, Hall MW, Neufeld JD, Stouthamer R, *et al.* (2013) Bacterial Communities Associated with Culex Mosquito Larvae and Two Emergent Aquatic Plants of Bioremediation Importance. PLoS ONE 8(8): e72522.

12- Demaio J, Pumpuni CB, Kent M, Beier JC. The midgut bacterial flora of wild Aedes triseriatus, Culex pipiens, and Psorophora columbiae mosquitoes. *Am J. Trop Med Hyg*. 1996; 54: 219-223.

13- Apte-Deshpande A, Paingankar M, Gokhale MD, Deobagkar DN. Serratia odorifera a midgut inhabitant of Aedes aegypti mosquito enhances its susceptibility to dengue-2 virus. *PLoS One*. 2012; 7: e40401.

14- Petersen J, McLaughlin S. Laboratory Exercises in Micr cises in Microbiology: Disco obiology: Discovering the Unseen ering the Unseen World Through Hands-On Investigation. CUNY: City University of New York; 2016.

15- Thakur P, Nayyar C, Tak V, Saigal K. Mannitol-fermenting and Tube Coagulase-negative Staphylococcal Isolates: Unraveling the Diagnostic Dilemma. *J. Lab Physicians*. 2017; 9(1): 65-66.

16- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 25th edn; 2015. http://em100.edaptivedocs.net/login.

17- CLSI. M100 Performance Standards for Susceptibility Testing. Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne (PA); 2018.

18- Devriese LA. A simplified system for biotyping Staphylococcus aureus strains isolated from animal species. *J. Appl Bacteriol*. 1984; 56(2): 215-20.

19- Hennekinne JA, Kerouanton A, Brisabois A, De Buyser ML. Discrimination of Staphylococcus aureus biotypes by pulsed-field gel electrophoresis of DNA macro-restriction fragments. *J. Appl Microbiol*. 2003; 94:321–329.

20- Kerr S, Kerr GE, Mackintosh CA, Marples RR. A survey of methicillin-resistant Staphylococcus aureus affecting patients in England and Wales. *J. Hosp Infect*. 1990; 16: 35–48.

21- Meyer W. Schema for the differentiation of habitat variants of Staphylococcus aureus. *Zentralbl Bakteriol Orig*. 1966; 201: 465–481. [PubMed] [Google Scholar]

22- Gwenzi W, Chaukura N, Muisa-Zikali N, Teta C, Musvuugwa T, Rzymski P, *et al.* Insects, Rodents, and Pets as Reservoirs, Vectors, and Sentinels of Antimicrobial Resistance. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10(1): 68.

23- Salam MA, Al-Amin MY, Salam MT, Pawar JS, Akhter N, Rabaan AA, *et al.* Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare (Basel)*. 2023; 11(13): 1946.

24- An NV, Hai LHL, Luong VH, Vinh NTH, Hoa PQ, Hung LV, *et.al*. Antimicrobial Resistance Patterns of Staphylococcus Aureus Isolated at a General Hospital in Vietnam Between 2014 and 2021. *Infect Drug Resist*. 2024; 17: 259-273.

25- Mourabit N, Arakrak A, Bakkali M, Zian Z, Bakkach J, Laglaoui A. Antimicrobial resistance trends in Staphylococcus aureus strains carried by poultry in north of Morocco: a preliminary analysis. *J. Food Qual*. 2021; 5: 8856004.

26- Rubin JE, Ball KR, Chirino-Trejo M. Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus and Staphylococcus pseudintermedius isolated from various animals. *Can Vet J*. 2011 ;52(2): 153-7.

27- Thapaliya D, Hellwig EJ, Kadariya J, Grenier D, Jefferson AJ, Dalman M, *et.al.* Prevalence and Characterization of Staphylococcus aureus and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus on Public Recreational Beaches in Northeast Ohio. *Geohealth*. 2017 14; 1(10): 320-332.

28- Lepper HC, Woolhouse MEJ, van Bunnik BAD. The Role of the Environment in Dynamics of Antibiotic Resistance in Humans and Animals: A Modelling Study. *Antibiotics (Basel)*. 2022; 11(10): 1361.

29- Zouache K, Martin E, Rahola N, Gangue MF, Minard G, Dubost A, *et.al.* Larval habitat determines the bacterial and fungal microbiota of the mosquito vector Aedes aegypti. *FEMS Microbiol Ecol*. 2022; 98(1): fiac016.

30- Nappier SP, Liguori K, Ichida AM, Stewart JR, Jones KR. Antibiotic Resistance in Recreational Waters: State of the Science. *Int. J. Environ. Res. Public. Health*. 2020; 17(21): 8034.

31- Manyi-Loh C, Mamphweli S, Meyer E, Okoh A. Antibiotic Use in Agriculture and Its Consequential Resistance in Environmental Sources: *Potential Public Health Implications. Molecules*. 2018; 23(4): 795.

New Findings in Veterinary Medicine
Homepage: nfvm.uoz.ac.ir
Semiannual - Print ISSN: 2645-4491 Online ISSN: 2676-5004

Volume 7, Issue 1, Spring & Summer 2024, pages: 46-53

Antibiotic resistance profiles and biotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from mosquito larvae: A warning for public health surveillance

Parisa Hasanein[1]*, Siamak Yari[2]

1- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Receive: April 7, 2024; Revise: April 18, 2024; Accept: April 20, 2024

10.22034/nfvm. 2024. 451328. 1235

Summary

The increasing threat of antibiotic-resistant strains of *Staphylococcus aureus* poses a serious challenge to global public health. The aim of this study was to assess the resistance levels of Staphylococcus aureus isolates obtained from mosquito larvae in the water pools of Zabol County. A total of 150 samples, each containing 20 mosquito larvae collected from 10 pools during spring and summer seasons in the Zabol County area, were gathered. The samples were transferred to the laboratory, washed, and then 5 ml of 1% PBS was added to them and homogenized using a homogenizer. Serial dilutions were made and cultured on Baird-Parker and Mannitol Salt Agar media. The grown colonies were identified using standard microbiological biochemical methods. The biotyping of isolates was performed using the Devriese proposed method. Antibiotic resistances were determined using the disk diffusion method. The results showed that 57 isolates of Staphylococcus aureus were identified. The highest resistance rates of isolates were to amikacin, oxacillin, and ampicillin, while the highest sensitivity rates were related to ciprofloxacin, fosfomycin, and erythromycin. Biotyping analysis indicated that 40% belonged to human strains, 20% to avian strains, and 5% to bovine strains. Additionally, 10 isolates showed non-specific biotypes (NHS), while 25 isolates were untypeable using the studied probe. These findings emphasize the critical need for continuous surveillance and management strategies to prevent the spread of antibiotic resistance in environmental reservoirs such as mosquito larvae. This study underscores the potential role of these vectors in the dissemination of antibiotic-resistant pathogens in communities and highlights the importance of this disease.

Keywords: *antibiotic resistance, Staphylococcus aureus, mosquito larvae, public health surveillance*