

Evaluating the spread mechanism of resistance of infectious bacteria to antibiotics

Zahra Khalaj^{۳۹}

Abstract

Antibiotic resistance occurs when microbes such as bacteria and fungi become resistant to the drugs that kill them. In other words, antibiotics and antifungals no longer can eliminate these agents; As a result, these microbes are not destroyed, they continue to grow and lead to fatal infections. A large number of deaths due to resistance to antibiotics are recorded every year.

This study aims to evaluate the infectious bacteria that have shown resistance to antibiotics. The World Health Organization (WHO) has classified these bacteria into three levels: critical, high, and medium-priority bacteria. Many studies show that one of the important causes of antibiotic resistance is genetic mutations. Even with the mutation of one nucleotide, the function of the gene and its product is changed, and as a result, bacteria show sensitivity to antibiotics. The data used in this study were collected from Google Scholar and PubMed articles.

keywords: Antibiotic resistant bacteria, infectious bacteria, Aantibiotic resistance

^{۳۹}. Bs of Cellular and Molecular Biology, Department of basic sciences, Ale Taha Institute of Higher Education, Tehran, Iran. z.khalaj0808@gmail.com

ارزیابی مکانیسم شیوع مقاومت باکتری‌های عفونی به آنتی‌بیوتیک

زهرا خلیج^{۴۰}

چکیده

مقاومت آنتی‌بیوتیکی زمانی اتفاق می‌افتد که میکروبهایی مانند باکتری‌ها و قارچ‌ها توانایی مقابله با داروهای از بین برنده آن‌ها را پیدا می‌کنند. به عبارت دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها و ضد قارچ‌ها دیگر توانایی از بین بردن این عوامل را ندارند؛ در نتیجه این میکروبه‌ها از بین نمی‌روند، به رشد خود ادامه می‌دهند و منجر به **عفونت‌های کشنده** می‌شوند. سالانه تعداد موارد مرگ فراوانی به علت مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها ثبت می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی باکتری‌های عفونی است که نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان داده‌اند. سازمان بهداشت جهانی این باکتری‌ها را به سه سطح باکتری‌های بحرانی، با اولویت بالا و متوسط طبقه‌بندی کرده است. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که یکی از دلایل مهم مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهش‌های ژنتیکی است. حتی با جهش یک نوکلئوتید، عملکرد ژن و محصول آن تغییر می‌کند و در نتیجه باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها حساسیت نشان می‌دهند. برای جمع‌آوری دیتاهای مورد استفاده در این مطالعه از مقالات Google scholar و Pub Med استفاده شده است.

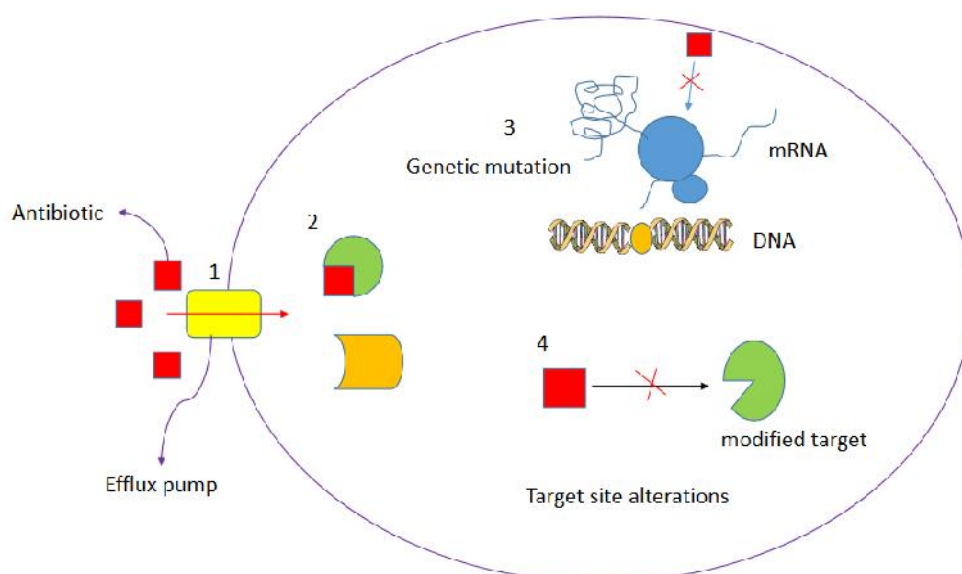
واژه‌های کلیدی: باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، باکتری‌های عفونی، مقاومت به آنتی‌بیوتیک

۴۰. کارشناس زیست شناسی سلولی مولکولی، دانشکده علوم پایه، موسسه آموزش عالی آل‌طه، تهران،

ایران. z.khalaj0808@gmail.com

مقدمه

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک مشکل جدی و روبه‌رشد در پزشکی مدرن است. استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر نقش عمده‌ای در افزایش شیوع باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک داشته است. با قرار دادن مکرر باکتری‌ها در معرض آنتی‌بیوتیک‌ها، فشار انتخابی بر باکتری‌ها وارد می‌کند که احتمال ظهور و گسترش مقاومت را بسیار بیشتر می‌کند [۱، ۲].



شکل ۱. مکانیسم‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک در باکتری‌ها

یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های سازمان بهداشت جهانی، مقاومت باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها است. توسعه مقاومت باکتریایی به‌عنوان یک عامل خطر برای سلامت افراد دنیا در نظر گرفته می‌شود [۱]. یکی از دلایل مهم مرگ و میر افراد، مقاومت باکتری‌ها به چندین نوع آنتی‌بیوتیک است. مطالعات نشان می‌دهد که باکتری‌ها با استفاده از مکانیسم‌های ژنتیکی به مواد شیمیایی ضد میکروبی مقاومت نشان می‌دهند [۳]. امروزه مقاومت دارویی در عفونت‌های مرتبط با باسیل‌های گرم منفی (GNB) مانند عفونت‌های مجاری تنفسی و تب روده در حال افزایش است که می‌تواند ناشی از عدم

وجود عوامل ضد میکروبی مفید و استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. با وجود تحقیقات در زمینه داروهای ضد میکروبی، مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها همچنان در حال افزایش است و در واقع این داروها تا حدودی بی‌اثر هستند [۴]. به نظر می‌رسد مکانیسمی که باعث مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود، تغییر مکان هدف آنتی‌بیوتیک است. جهش خودبه‌خودی از ژن‌های باکتریایی می‌تواند یکی از دلایل مقاومت آن‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. به‌عنوان مثال جهش در آنزیم‌های DNA جیراز و RNA پلیمرز می‌تواند باعث ایجاد مقاومت شود. مقاومت به کینولون‌ها و ریفامایسین‌ها می‌تواند به علت تبادلات ژنتیکی و تغییرات ژنوم باکتریایی کسب شود [۵].

در سال ۲۰۱۶ به درخواست کشورها، سازمان بهداشت جهانی طبقه‌بندی‌ای با توجه به سطح مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها ارائه کرد. همچنین برخی معیارهای دیگر مانند میزان مرگ و میر، قابلیت انتقال، شیوع مقاومت باکتریایی و توانایی جلوگیری از آن‌ها در این طبقه‌بندی گنجانده شده است. سازمان بهداشت جهانی سطح مقاومت باکتریایی را به سه گروه تقسیم کرد: دسته‌هایی با اولویت‌های بحرانی، بالا و متوسط. باکتری‌های دارای اولویت بحرانی عبارتند از: *اسینتوباکتر بومانی*^{۴۱} و *سودوموناس آئروژینوزا*^{۴۲} که همگی به آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم مقاوم هستند. انتروباکتریاسه‌ها به سفالوسپورین‌های نسل سوم و کارباپنم‌ها مقاومند. باکتری‌های با اولویت بالا شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* و *انتروکوکوس فاسیوم* که به ترتیب نسبت به متی‌سیلین و ونکومایسین مقاوم شده‌اند. همچنین *هلیکوباکتر پیلوری* که مسئول عفونت‌های اکتسابی معده است، به کلاریترومایسین و نایسریا گونوره آ و *سالمونلا تیفی* به فلوروکینولون مقاوم شده‌اند. هدف اصلی از مطالعه حاضر، بررسی این باکتری‌های عفونی و ارزیابی مکانیسم‌های مقاومت‌شان است [۱].

۴۱. *Acinetobacter baumannii*

۴۲. *Pseudomonas aeruginosa*

۱. اولویت‌های حیاتی

اسینتوباکتر بومانی، مقاوم به کارباپنم

اسینتوباکتر بومانی باکتری گرم منفی است که به عنوان یکی از سرسخت‌ترین پاتوژن‌ها در درمان با آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شده است. این پاتوژن همچنین می‌تواند باعث عفونت در افراد دارای نقص ایمنی شود. اسینتوباکتر شیوع بالایی در بیمارستان‌ها دارد و می‌توان گفت که ژن‌های مقاومت به فلوروکینولون‌ها و سفالوسپورین‌ها را کسب کرده است. دلیل مقاومت این پاتوژن به کارباپنم، وجود یک بتالاکتاماز کلاس d ذاتی است. همچنین دارای ژن‌های کد کننده کلاس c بتالاکتاماز است که به سفالوسپورین‌ها مقاومت نشان داده است [۶، ۷].

سودوموناس آئروژینوزا، مقاوم به کارباپنم

سودوموناس آئروژینوزا باکتری گرم منفی است که می‌تواند منجر به بروز عفونت‌های گسترده خون، عفونت‌های دستگاه ادراری، ذات‌الریه و عفونت‌های دستگاه گوارش شود. میزان مرگ و میر ناشی از آن در محدوده ۱۰ تا ۳۵ درصد قرار دارد. طبق گزارش مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های ایالات متحده، *سودوموناس آئروژینوزا* به عنوان پاتوژنی در نظر گرفته شده است که نیاز فوری به درمان با آنتی‌بیوتیک‌های جدید و مؤثرتر دارد زیرا با وجود مهارکننده‌های بتا لاکتام، بتا لاکتاماز (BL-BLI) همچنان مقاومت این باکتری به آنتی‌بیوتیک کارباپنم مشاهده می‌شود. درمان با این نوع آنتی‌بیوتیک با محدودیت مواجه است و مؤثر نیست [۸].

انتروباکتر باسه مقاوم به کارباپنم، تولیدکننده لاکتاماز ESBL

پس از چندین دهه استفاده از مواد ضد میکروبی، امروزه شاهد مقاومت برخی از پاتوژن‌ها به آنتی‌بیوتیک هستیم. بسیاری از سویه‌های باکتریایی در محیط بیمارستان به افراد منتقل شده و در مناطق دیگر نیز پخش می‌شود. شواهد نشان می‌دهد که باکتری‌های تولیدکننده لاکتاماز طیف گسترده (ESBL)، توانسته‌اند به کارباپنم مقاوم

شوند. در واقع خانواده انتروباکتریاسه یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌هایی هستند که به‌طور گسترده‌ای منجر به پنومونی، مننژیت و باکتریمی می‌شوند و از طریق کدگذاری ژن ESBL می‌توانند آنزیمی تولید کنند که در مکانیسم‌های مقاومت به مواد ضد میکروبی مانند کارباپنم مشارکت می‌کنند. مقاومت به کارباپنم به دلیل فعالیت هیدرولاز، متالوبتالاکتاماز و آنزیم‌های سرین بتا لاکتاماز است که این آنزیم‌ها نیز در بخشی از عوامل دخیل در مقاومت باکتریایی مشارکت می‌کنند [۹].

۲. اولویت‌های مهم

انتروکوکوس فاسیوم، مقاوم به وانکومایسین

منشأ انتروکوک‌ها به حدود ۴۰۰ سال پیش برمی‌گردد. آن‌ها می‌توانند غلظت بالای اسیدهای صفراوی را تحمل کرده و در دستگاه گوارش انسان یافت می‌شوند. همچنین می‌توانند ژن‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات را رمزگذاری کنند. با استفاده از تکنیک‌های توالی‌یابی و تجزیه و تحلیل ژن، مشخص شد مقاومت چند دارویی در بین انتروکوک‌ها وجود دارد و این مشکل، باعث گسترش انتروکوک‌های مقاوم به وانکومایسین (VRE) می‌شود. پزشکان توصیه می‌کنند که آمپی‌سیلین همراه با سفتریاکسون یا داپتومایسین می‌توانند بر روی *انتروکوک فکالیس*^{۴۳} مؤثر باشند [۱۰، ۱۱].

استافیلوکوکوس اورئوس، مقاوم به متی‌سیلین و وانکومایسین

استافیلوکوک‌ها یکی از شایع‌ترین عفونت‌های بیمارستانی و از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و وانکومایسین (VISA) گزارش شده‌اند. مطالعات نشان می‌دهد که میزان تشخیص استافیلوکوک مقاوم به وانکومایسین حدود ۶۰ درصد افزایش یافته است. به نظر می‌رسد که تغییرات کوچک در حداقل غلظت

۴۳. E. faecalis

بازدارنده (MIC) می‌تواند باعث ارتقاء ویژگی‌های فارماکودینامیک شده و استفاده بالینی وانکومایسین در برابر این عامل بیماری‌زا را بهبود بخشد [۱۲].

هلیکوباکتر پیلوری، مقاوم به کلاریترومایسین

عفونت هلیکوباکتر پیلوری به‌عنوان عامل زخم معده و سرطان شناخته می‌شود. مقاومت این باکتری به کلاریترومایسین در حال افزایش است. با استفاده از PCR می‌توان مکانیسم‌هایی را که منجر به مقاومت این باکتری علیه کلاریترومایسین می‌شود را کشف کرد. مطالعات نشان می‌دهد جهش‌های نقطه‌ای A2143G و A2142G در اروپا و A2144G در آسیا رایج هستند و احتمالاً مقاومت باکتریایی مربوط به جهش‌های ژنتیکی است، اما اطلاعات در این زمینه هنوز به‌طور قطعی مشخص نشده است [۱۳].

کمپیلوباکتر، مقاوم در برابر فلوروکینولون

کمپیلوباکتر سالانه افراد زیادی را در ایالات متحده آلوده می‌کند و این باکتری عامل بیماری گاستروانتریت است. با توجه به گردش گونه‌های کمپیلوباکتر در میان طیور و مصرف طیور توسط انسان، عفونت ناشی از این پاتوژن می‌تواند به سرعت گسترش یابد. مطالعات نشان می‌دهد که این نوع باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند فلوروکینولون مقاوم شده‌اند و این مقاومت همچنان در حال افزایش است. بخش عمده‌ای از عفونت کمپیلوباکتر از طریق کمپیلوباکتر ژژونی و قسمت کوچک‌تری توسط کمپیلوباکتر کلی منتقل می‌شود [۱۴].

سالمونلاها، مقاوم به فلوروکینولون

سالمونلا یک باکتری گرم منفی است که عمدتاً سلامت افراد را به خطر می‌اندازد و عامل گاستروانتریت است. این باکتری عامل یکی از شایع‌ترین مسمومیت‌های غذایی می‌باشد که بیشتر از طریق طیور گسترش می‌یابد. متأسفانه این پاتوژن مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون، منجر به گسترش بیماری‌زایی آن شده است. با استفاده

از تکنیک Multiplex PCR مشخص شده است که جهش‌های ژنتیکی در چهار ژن *parE*، *gyrB*، *gyrA* و *parC* می‌تواند علت مقاومت این پاتوژن به دارو و نیز باعث سالمونلوزیس شود. مطالعات نشان می‌دهد که جهش در اولین نوکلئوتید مربوط به *parC* در کدون ۵۷ این باکتری اتفاق می‌افتد (Ser 57 Tyr) [15].

نایسریا گونوره آ، مقاوم به سفالوسپورین و فلوروکینولون

نایسریا گونوره آ عامل بیماری سوزاک، پاتوژنی است که می‌تواند به‌طور مداوم و بدون علامت بین شرکای جنسی منتقل می‌شود. این باکتری مقاوم به فلوروکینولون (QRNG) اولین بار در سال ۱۹۹۰ شناخته شد. از آن زمان به سرعت در مناطقی مانند ناحیه غرب اقیانوس آرام، فیلیپین، اندونزی، استرالیا و هند گسترش یافت [۱۶]. همچنین مطالعات نشان داده است که توالی ST1407 و پروتئین موزائیک متصل شونده به پنی‌سیلین (PBP) بیشترین مقاومت این پاتوژن را در برابر طیف وسیعی از سفالوسپورین‌ها ایجاد می‌کند [۱۷].

۳. اولویت‌های متوسط

استرپتوکوک پنومونیه، غیر حساس به پنی‌سیلین

استرپتوکوک پنومونیه عامل پنومونی است که قبلاً با پنی‌سیلین درمان می‌شد، اما در دهه ۱۹۶۰ پنوموکوک‌های مقاوم به پنی‌سیلین (PNSP) شناسایی شدند و تاکنون این سویه مقاوم در حال انتشار است. مطالعات نشان می‌دهد که نوترکیبی بین گونه‌ای در ژن‌های *pbp2x*، *pbp2b* و *pbp1a* باعث تغییر در غلظت بتا لاکتام‌هایی می‌شوند که به پنی‌سیلین حساس نیستند. به نظر می‌رسد پایش داده‌های ژنومی می‌تواند راهبرد مناسبی در جهت کنترل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها باشد [۱۸].

هموفیلوس آنفلوانزا، مقاوم به آمپی‌سیلین

مطالعات نشان می‌دهد که میزان ابتلا به هموفیلوس آنفلوانزا در بزرگسالان افزایش یافته

است. این میزان بروز می‌تواند به دلیل مقاومت این پاتوژن در برابر آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین باشد. در واقع این سویه‌ها ژن‌هایی مانند بتا لاکتاماز را با استفاده از یک پلاسمید، کدگذاری می‌کنند که می‌تواند این سویه را در برابر آمپی‌سیلین مقاوم کند. باین حال در برخی موارد، به‌رغم عدم وجود بیان ژن بتا لاکتاماز، همچنان مقاومت به آنتی‌بیوتیک مشاهده می‌شود [۱۹، ۲۰].

شیگلا، مقاوم در برابر فلوروکینولون

عفونت با شیگلا سونئی می‌تواند منجر به اسهال خونی شود. دلیل گسترش این پاتوژن می‌تواند مقاومت آن در برابر داروهای ضد میکروبی مانند فلوروکینولون باشد. هرچند مکانیسم مقاومت آن ناشناخته است. اما با توجه به شواهد در طی توالی‌یابی ژنوم به نظر می‌رسد که جهش در ژن‌های *gyrA* و *parC* علت مقاومت این پاتوژن به فلوروکینولون باشد. حتی ممکن است بیان بتا لاکتاماز با استفاده از پلاسمید و ژن‌های کدکننده پیلای نوع ۴ در این امر دخالت داشته باشد [۲۱].

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات نشان می‌دهد که طیف وسیعی از جهش‌های ژنی عامل اصلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی هستند [۲۲]. به عنوان مثال در مطالعه‌ای که توسط Hong Chen و همکارانش روی ۳۶ مورد از مناطق کشاورزی حاوی باکتری انجام شده مشخص شده است که جهش‌های ژنی سهم عمده‌ای را در مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک دارند [۲۳]. مطالعه دیگر که توسط Stephen Yao Gbedema و همکارانش روی ۲۳۶۱ نمونه عفونت با پروتئوس انجام شد، تولید بتا لاکتاماز و مقاومت ضد میکروبی را در نمونه‌ها نشان داده است [۲۴]. شناخت مکانیسم‌های مولکولی و عواملی که منجر به خنثی‌سازی اثر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شوند، ضروری است. یکی از استراتژی‌هایی که می‌توان برای مقابله با باکتری‌ها ارائه داد، افزایش توانایی و دسترسی آنتی‌بیوتیک‌ها در محل اثرشان است که می‌تواند در این زمینه کارآمد باشد. همچنین به کارگیری فناوری‌هایی در

جهت تعمیر جهش‌های ژنی می‌تواند میزان مقاومت باکتری‌ها را به آنتی‌بیوتیک کاهش دهد. با این حال استفاده از استراتژی‌های جدید مستلزم داشتن دانشی گسترده در مکانیسم‌های مولکولی می‌باشد [۲۵].

رشد و توسعه باکتری‌های مقاوم به ضد میکروب‌ها، سیستم‌های مراقبت‌های بهداشتی را به خطر می‌اندازد. به عنوان مثال در شیمی درمانی، پیوند اعضا و جراحی‌ها، نیاز ویژه‌ای به آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد و در صورت عدم کارکرد مناسب آن‌ها سلامت افراد به خطر می‌افتد. همچنین آنتی‌بیوتیک‌های جدید باید طوری طراحی شوند که تنها روی پاتوژن‌ها اثر خنثی‌سازی داشته باشند و روی فلور میکروبی بدن که برای سلامت انسان مفید هستند، بی‌اثر باشند زیرا برخی آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند عملکرد فلورهای میکروبی را نیز تحت تأثیر قرار بدهند، حال آن‌که فلور میکروبی عملکردهای مهمی همچون متابولیسم غذا، دارو و ویتامین‌ها را بر عهده دارند [۲۶].

منابع

1. Tacconelli, E., et al., *Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis*. The Lancet infectious diseases, 2018. 18(3): p. 318-327.
2. Davey, P., C. Pagliari, and A. Hayes, *The patient's role in the spread and control of bacterial resistance to antibiotics*. Clinical Microbiology and Infection, 2002. 8: p. 43-68.
3. Renata, U.-C., et al., *Antibiotic Resistance in Bacteria—A Review*. 2022.
4. Mehta, K.C., et al., *Burden of antibiotic resistance in common infectious diseases: role of antibiotic combination therapy*. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR, 2014. 8(6): p. ME05.
5. Lambert, P.A., *Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites*. Advanced drug delivery reviews, 2005. 57(10): p. 1471-1485.
6. A Evans, B., A. Hamouda, and S. GB Amyes, *The rise of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii*. Current pharmaceutical design, 2013. 19(2): p. 223-238.
7. Poirel, L. and P. Nordmann, *Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology*. Clinical Microbiology and Infection, 2006. 12(9): p. 826-836.
8. Canton, R., Y. Doi, and P.J. Simner, *Treatment of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa infections: a case for cefiderocol*. Expert Review of

- Anti-Infective Therapy, 2022. 20(8): p. 1077-1094.
9. Schwaber, M.J. and Y. Carmeli, *Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a potential threat*. *Jama*, 2008. 300(24): p. 2911-2913.
 10. Miller, W.R., et al., *Resistance in vancomycin-resistant enterococci*. *Infectious Disease Clinics*, 2020. 34(4): p. 751-771.
 11. Frieri, M., K. Kumar, and A. Boutin, *Antibiotic resistance*. *Journal of infection and public health*, 2017. 10(4): p. 369-378.
 12. Steinkraus, G., R. White, and L. Friedrich, *Vancomycin MIC creep in non-vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant S. aureus (MRSA) blood isolates from 2001–05*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2007. 60(4): p. 788-794.
 13. De Francesco, V., et al., *Clarithromycin-resistant genotypes and eradication of Helicobacter pylori*. *Annals of internal medicine*, 2006. 144(2): p. 94-100.
 14. Nelson, J.M., et al., *Fluoroquinolone-resistant Campylobacter species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story*. *Clinical Infectious Diseases*, 2007. 44(7): p. 977-980.
 15. Ling, J., et al., *Mutations in topoisomerase genes of fluoroquinolone-resistant salmonellae in Hong Kong*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2003. 47(11): p. 3567-3573.
 16. Lewis, D., *The role of core groups in the emergence and dissemination of antimicrobial-resistant N gonorrhoeae*. *Sexually transmitted infections*, 2013. 89(Suppl 4): p. iv47-iv51.
 17. Shimuta, K., et al., *Emergence and evolution of internationally disseminated cephalosporin-resistant Neisseria gonorrhoeae clones from 1995 to 2005 in Japan*. *BMC Infectious Diseases*, 2015. 15: p. 1-11.
 18. Dewé, T.C., J.C. D'Aeth, and N.J. Croucher, *Genomic epidemiology of penicillin-non-susceptible Streptococcus pneumoniae*. *Microbial genomics*, 2019. 5(10).
 19. Markowitz, S., *Isolation of an ampicillin-resistant, non-beta-lactamase-producing strain of Haemophilus influenzae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1980. 17(1): p. 80-83.
 20. Bae, S., et al., *High prevalence of nasal carriage of β -lactamase-negative ampicillin-resistant Haemophilus influenzae in healthy children in Korea*. *Epidemiology & Infection*, 2013. 141(3): p. 481-489.
 21. Chung The, H., et al., *Introduction and establishment of fluoroquinolone-resistant Shigella sonnei into Bhutan*. *Microbial genomics*, 2015. 1(6): p. e000042.
 22. Demerec, M., *Origin of bacterial resistance to antibiotics*. *Journal of bacteriology*, 1948. 56(1): p. 63-74.
 23. Cheng, W., et al., *Behavior of antibiotics and antibiotic resistance genes in eco-agricultural system: a case study*. *Journal of hazardous materials*, 2016.

- 304: p. 18-25.
24. Feglo, P.K., et al., *Occurrence, species distribution and antibiotic resistance of Proteus isolates: A case study at the Komfo Anokye Teaching Hospital (KATH) in Ghana*. Int J Pharm Sci Res, 2010. 1(9): p. 347-52.
 25. Wright, G.D., *Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification*. Advanced drug delivery reviews, 2005. 57(10): p. 1451-1470.
 26. Odonkor, S.T. and K.K. Addo, *Bacteria resistance to antibiotics: recent trends and challenges*. Int J Biol Med Res, 2011. 2(4): p. 1204-1210.