

Plasmidele bacteriene – factori de rezistență antimicrobiană Bacterial plasmids – antimicrobial resistance factors

Folescu M, Dumitrescu E, Orășan AS, Muselin F, Doma AO, Cristina RT
FMV Timișoara

mikefolescu@gmail.com

Cuvinte cheie: plasmide, antibierezistență, transfer genetic orizontal, antibiotice.

Key words: plasmids, antibiotic resistance, horizontal gene transfer, antibiotics.

Rezumat

Plasmidele reprezintă formă de comunicare între bacterii utilizând informația genetică. Ele permit transferul orizontal, în aceeași generație, de informație genetică care codifica trăsături patogenice și de rezistență la mediu, promovând evoluția rapidă și adaptabilitate la o varietate de medii.

În mare parte plasmidele se găsesc în bacterii, dar sunt prezente și în organismele multicelulare. Plasmidele conțin de obicei cel puțin o genă și nu sunt considerate forme de viață independente, chiar dacă posedă gene separate de gazdele lor. Porțiuni independente de ADN au fost găsite pentru prima dată în celulele bacteriene la sfârșitul anilor 1940 de către cercetătorii care au investigat modul în care bacteriile devin rezistente la antibiotice și modul în care trăsăturile sunt transmise descendenților de către bacteriofagi (virusurile bacteriilor) și structurile ADN, altele decât cromozomii. Unele plasmide au un rol determinant în antibierezistența microbiană, însă mecanismele lor nu sunt încă pe deplin înțelese.

Abstract

Plasmids are a form of communication between bacteria using genetic information. They allow the horizontal transfer, in the same generation, of genetic information encoding pathogenic traits and environmental resistance, promoting rapid evolution and adaptability to a variety of environments. Plasmids are mostly found in bacteria, but they are also present in multicellular organisms. Plasmids usually contain at least one gene and are not considered independent life forms, even if they possess separate genes from their hosts. Independent strands of DNA were first found in bacterial cells in the late 1940s by researchers investigating how bacteria become resistant to antibiotics and how traits are passed onto offspring by phages (viruses of bacteria) and DNA structures, other than chromosomes. Some plasmids have a determining role in microbial antibiotic resistance, but their mechanisms are not yet fully understood.

1. Plasmidele - Scurt istoric

O plasmidă reprezintă o porțiune mică circulară de ADN distinctă de ADN-ul nuclear care se găsește la nivelul cromozomilor organismului. Acestea se replica independent de ADN-ul chromozomial. Plasmidele codează cel puțin o genă, majoritatea genelor codate aduc beneficii organismelor purtătoare.

Deoarece sunt separate de cromozom, se reproduc independent. Cu toate acestea, plasmidele sunt obligate să se înmulțească în celulă prin multiplicarea cromozomului.

Plasmidele diferă ca mărime și numărul de copii din celulă. Plasmidele poartă gene care adaugă celulei proprietăți suplimentare, dar nu sunt necesare pentru viața celulară și nu afectează vitalitatea celulei [2].

Cuvântul „plasmidă” a fost inventat pentru prima dată de Joshua Lederberg în 1952.



Fig.1. Joshua-Lederberg-1958.

Sursa: <https://cdn.britannica.com/33/21033-050-10D53657/Joshua-Lederberg-1958.jpg> [32]

El l-a folosit pentru a descrie „orice element ereditar extracromozomial”. Lederberg a folosit pentru prima dată termenul într-o lucrare pe care a publicat-o, descriind unele experimente pe care el și studentul său absolvent Norton Zinder le-au efectuat asupra bacteriilor *Salmonella* și a virusului său P22.

Pe parcursul acestei lucrări, ei au observat că particulele de virus ar putea cumva să preia gene bacteriene și să le transfere la o altă gazdă, proces pe care l-au numit transducție [15].

Cu toate acestea, modul în care a funcționat acest fenomen și ce a rămas în urmă au rămas prost înțelese timp de mulți ani. Acest lucru s-a schimbat în urma dezvăluirii structurii cu dublu helix a ADN-ului în 1953, care a dovedit că ADN-ul era format din material genetic.

La scurt timp după ce oamenii de știință au început să stabilească că plasmidele erau alcătuite din secvențe mici de ADN care le-au ajutat să transmită anumite trăsături [12].

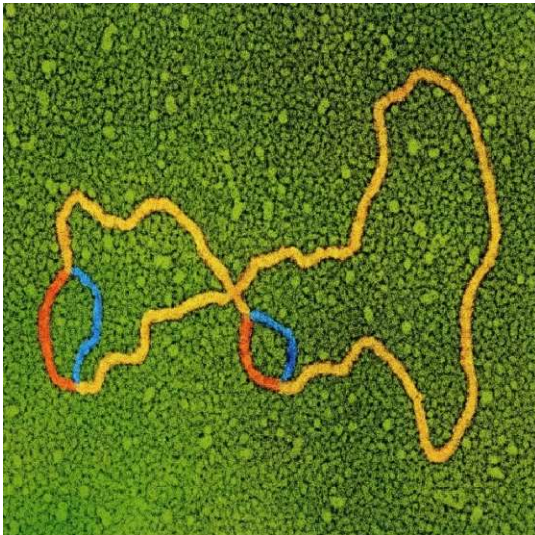


Fig. 2. Micrografie electronică de transmisie a unei plasmide de ADN bacterian în care au fost cartografiate două gene individuale (albastru).
Sursa: <https://fineartamerica.com/featured/coloured-tem-of-dna-plasmid-showing-two-genes-pa-mcturk-university-of-leicester--david-parkerscience-photo-library.html> [33]

2. Funcțiile și tipurile de plasmide

Plasmidele au multe funcții diferite. Ele pot conține gene care sporesc supraviețuirea

unui organism, fie prin uciderea altor organisme, fie prin apărarea celulei gazdă prin producerea de toxine. Unele plasmide facilitează procesul de replicare în bacterii [29, 13].

Deoarece plasmidele sunt atât de mici, ele conțin de obicei doar câteva gene cu o funcție specifică (spre deosebire de o cantitate mare de ADN necodant). În aceeași celulă pot coexista mai multe plasmide, fiecare cu funcții diferite. Metoda principală de transfer a materialului genetic între bacterii este metoda conjugării.

Conjugarea bacteriană este transferul de material genetic între celulele bacteriene prin contact direct, celulă la celulă sau printr-o conexiune între două celule, aceasta având loc prin intermediul unei structuri, de forma unei punți, numita *pilus* [8, 28].

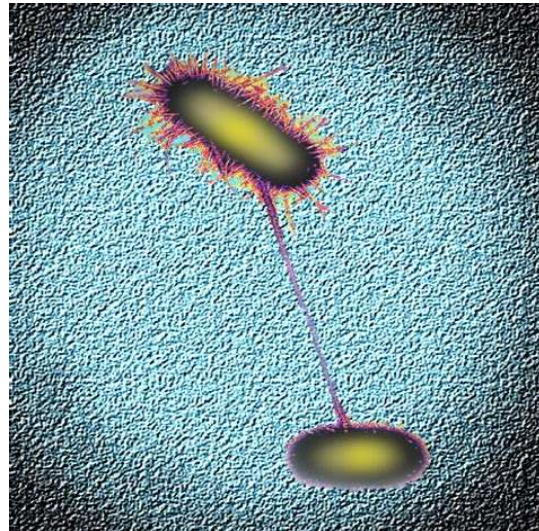


Fig. 3. Plasmida – metoda conjugării
Sursa: <https://www.expmedndm.ox.ac.uk/modernising-medical-microbiology> [34]

Plasmidele au o multitudine de funcții care le împart în diferite tipuri:

1. Plasmide de fertilitate
2. Plasmide de rezistență
3. Plasmide de virulență
4. Plasmide degradative
5. Plasmide Col

2.1. Plasmidele de fertilitate

Plasmidele de fertilitate, cunoscute și sub denumirea de plasmide F, conțin gene de transfer care permit transferul genelor de la o

bacterie la alta prin conjugare. Acestea alcătuiesc categoria largă de plasmide conjugative. Plasmidele F sunt epizomi, plasmide care pot fi inserate în ADN-ul cromozomial. Bacteriile care au plasmida F sunt cunoscute ca F pozitiv (F+), iar bacteriile fără ea sunt F negative (F-). Când o bacterie F+ se conjugă cu o bacterie F-, rezultă două bacterii F+. În fiecare bacterie poate exista o singură plasmidă F [3, 30].

2.2. Plasmidele de rezistență

Plasmidele de rezistență sau plasmidele R conțin gene care ajută o celulă bacteriană să se apere împotriva factorilor de mediu, cum ar fi otrăvurile sau antibioticele.

Unele plasmide de rezistență se pot transfera prin conjugare. Când se întâmplă acest lucru, o tulpină de bacterii poate deveni rezistentă la antibiotic [17].

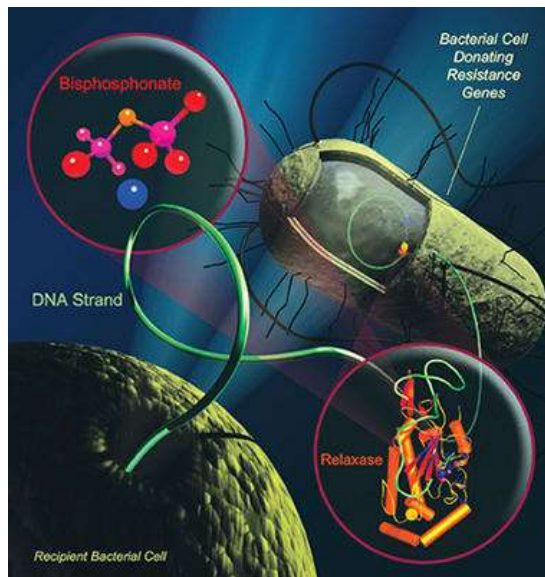


Fig. 4. Bacterii - răspândirea rezistenței la antibiotic
Sursa: https://www.nationalreviewofmedicine.com/issue/2007/07_30/4_advances_medicine_13.html [35]

Recent, tipul de bacterie care provoacă gonoreea, infecție cu transmitere sexuală a devenit atât de rezistent la o clasă de antibiotice numite chinolone încât o nouă clasă de antibiotice, numite cefalosporine, a început să fie recomandată de către Organizația Mondială a Sănătății. Bacteriile pot deveni chiar rezistente la aceste antibiotice în decurs de

cinci ani. Potrivit O.M.S, utilizarea excesivă a antibioticelor pentru a trata alte infecții, cum ar fi infecțiile tractului urinar, poate duce la proliferarea tulpinilor rezistente la medicamente [20].

2.3. Plasmidele de virulență

Când o plasmidă de virulență se află în interiorul unei bacterii, aceasta transformă acea bacterie într-un agent patogen, care este un agent care provoacă boala. Bacteriile care provoacă boli pot fi răspândite și replicate cu ușurință printre indivizii afectați.

Bacteria *Escherichia coli* are mai multe plasmide de virulență. *E. coli* se găsește în mod natural în intestinul uman și la alte animale, dar anumite tulpini de *E. coli* pot provoca diaree și vărsături severe. *Salmonella enterica* este o altă bacterie care conține plasmide de virulență [1].

2.4. Plasmidele degradative

Funcția principală a plasmidelor degradative este de a ajuta bacteria gazdă în digestia compușilor care nu se găsesc în mod obișnuit în natură, cum ar fi camforul, acidul salicilic, toluenul și xilenul. Astfel, aceste plasmide cuprind gene pentru enzime, care au o funcție principală de a descompune compuși specifici. Plasmidele degradative pot fi descrise ca fiind conjugative [7].

2.5. Plasmidele Col

Plasmidele Col conțin gene care produc bacteriocine (cunoscute și sub numele de colicine), acestea sunt proteine careucid alte bacterii și astfel apără bacteria gazdă. Bacteriocinele se găsesc în multe tipuri de bacterii, inclusiv *E. coli*, care le obține din plasmida ColE1 [13].

3. Plasmidele implicate în antibioretistență

3.1. Rezistența la sulfamide

Efectul selectiv al sulfonamidelor asupra bacteriilor se datorează efectului lor inhibitor

asupra formării acidului folic, o coenzimă importantă a tuturor celulelor vii.

Celulele de mamifere, celulele noastre, nu sunt dotate cu acea secvență de reacții enzimice necesare pentru a sintetiza acidul folic, ci se bazează pe acidul folic ca vitamina gasită în hrana noastră.

În mod specific, s-a demonstrat că sulfonamidele interferează cu formarea bacteriană a acidului folic prin similitudinea sa structurală cu acidul p-aminobenzoic intermediar [27].

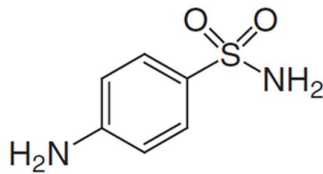


Fig. 5. Sulfanilamida

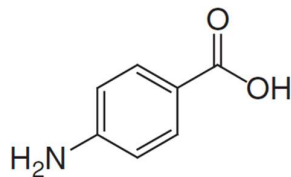


Fig. 6. Acidul p-aminobenzoic

Unul din motivele pentru utilizarea diminuată a sulfonamidelor a fost dezvoltarea rapidă a rezistenței la mulți agenți patogeni: de exemplu, streptococi, meningococi și gonococi.

Rezistența la sulfonamide este acum foarte comună și în rândul enterobacteriilor gram-negative care infectează tractul urinar. Mecanismele moleculare ale rezistenței la sulfonamide diferă semnificativ între diferite bacterii și au fost investigate doar în ani relativ recentii [31].

Cel mai simplu mecanism include modificări mutaționale ale enzimei țintă, dihidropteroat sintaza care limitează legarea medicamentului și astfel atenuează competiția cu substratul normal, acidul p-aminobenzoic.

Dihidropteroat sintetaza catalizează penultima etapă din calea enzimatică care duce la acid folic. În această etapă, nucleul pteridin al acidului folic este legat de acidul p-aminobenzoic.

Asemănarea structurală dintre sulfonamidă și acidul p-aminobenzoic și afinitatea mare a sulfonamidei pentru enzimă efectuează o

inhibare competitivă a formării dihidropteroatului și, la rândul său, a formării acidului folic.

Dacă o mutație spontană are loc la nivelul genei cromozomiale care exprimă dihidropteroat sintaza, modificând structura enzimei astfel încât să lege sulfonamida mai puțin strâns, concurența cu acidul p-aminobenzoic va fi mai puțin pronunțată, iar gazda sa manifestă apoi rezistență la sulfonamide.

Acest fenomen a fost demonstrat într-un experiment simplu de laborator în care bacteriile E. coli au fost răspândite pe plăci de agar care conțineau concentrații inhibitoare de sulfonamidă.

Coloniile unice, aproximativ una din 100 de milioane de bacterii total răspândite, au arătat rezistență și au crescut la colonii.

Secvența de nucleotide a genei dihidropteroat sintazei în acele bacterii rezistente a arătat că a avut loc o mutație punctiformă spontană, schimbând o nucleotidă și, la rândul său, schimbând un aminoacid în enzima exprimată [25,21].

Studii mai detaliate ale acestei enzime de rezistență au arătat o creștere de 150 de ori a valorii constante de inhibiție (Ki).

Aceasta înseamnă că concentrația de sulfonamide trebuie crescută de 150 de ori în comparație cu cea necesară pentru aceeași inhibare a enzimei originale.

S-a putut observa, totuși, că bacteria gazdă a trebuit să plătească un preț pentru rezistența sa, deoarece enzima modificată mutațional avea nevoie de o concentrație de 10 ori mai mare a substratului său normal, acidul p-aminobenzoic, pentru a funcționa optim (un 10 -creștere de ori în Km).

Enzima mutantă a prezentat și sensibilitate la temperatură. Prezența sulfonamidei creează o situație acută de supraviețuire în care o enzimă modificată mutațional este selectată pentru a ajuta bacteriile să supraviețuiască, dar cu prețul unei enzime mai puțin eficiente care diferă de structura optimă selectată în timpul evoluției lungi a bacteriilor [11].

Rezistența la sulfonamide a fost una dintre primele trăsături de rezistență la antibiotice care s-au dovedit a fi transferabile.

Deoarece sulfonamidele și trimetoprimul atacă etapele succesive din aceeași cale enzimatică care duce la tetrahidrofolat, există un efect sinergic care a fost exploatat în combinația de medicament co-trimoxazol, care conține trimetoprim în combinație cu sulfonamida sulfametoxazol.

Rezistența la trimetoprim este obișnuită în prezent și crește în frecvență.

Cel mai comun tip de rezistență la trimetoprim a enterobacteriilor gram-negative (patogeni comuni ai tractului urinar) este reprezentat de gene străine care exprimă dihidrofolat reductaza rezistentă la trimetoprim, care au fost capabile să se transfere orizontal, purtate pe o plasmidă transferabilă [14].

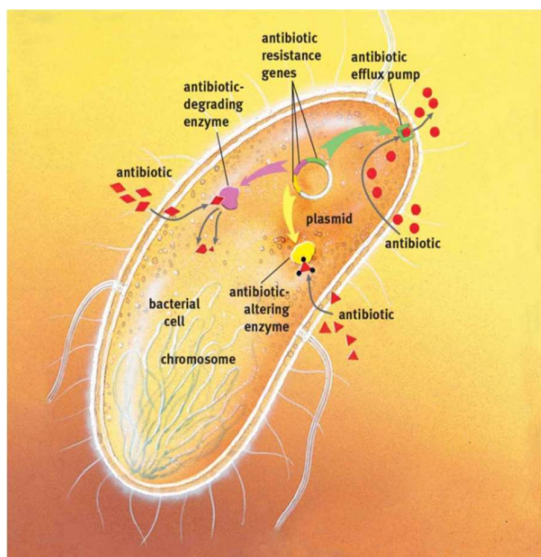


Fig. 10. Implicarea plasmidelor în procesul de antibioretistență

Sursa: <https://schoolbag.info/biology/mcat/mcat.files/image014.jpg> [36]

Prima dintre aceste gene care mediază rezistență a fost găsită cu zeci de ani în urmă, dar genele nou găsite par să fie adăugate în mod continuu pe listă, unde acum se găsesc 30 de gene de rezistență diferite de acest tip.

Originea nici uneia dintre aceste gene nu este cunoscută.

Aceste gene de rezistență trebuie să se fi transferat orizontal în bacterii patogene selectate din cauza utilizării intensive a trimetoprimului în medicina umană și de asemenea, în practica veterinară [7].

3.3. Rezistența la beta-lactamine

Penicilina a fost primul antibiotic în adevăratul sens, adică cu originea în celulele vii. A fost descoperit în 1928, dar nu a fost folosit ca remediu până la începutul anilor 1940. Utilizarea sa clinică a avut un succes spectaculos, de exemplu, în tratamentul infecțiilor streptococice.

Marele succes a indus un interes intens pentru structura moleculei de penicilina și pentru efectul ei antibacterian.

Studiile microscopice timpurii ale efectului penicilinei asupra stafilococilor aflați în dezvoltare au arătat că celulele bacteriene cresc în volum și par să explodeze sub efectul medicamentului [10].

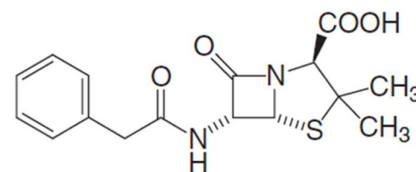


Fig. 11. Penicilina G

Dacă, celulele care nu se dezvoltă din cauza lipsei de nutrienți au fost expuse la penicilină, acestea nu au fost afectate de medicament, iar dacă penicilina a fost îndepărtată prin filtrare sau centrifugare și s-au adăugat nutrienți, creșterea s-a reluat.

Penicilina poate interfera doar cu bacteriile în creștere. Acest lucru, la rândul său, a fost interpretat în sensul că penicilina a interferat cu sinteza peretelui celular bacterian, care, de exemplu, protejează integritatea celulei bacteriene de presiunea osmotică internă într-un mediu hipoton.

Curând s-a dovedit că amida ciclică cu legătura sa betalactamică a fost componenta activă a moleculei de penicilină [6].

Inelul betalactamic este o caracteristică comună a tuturor antibioticelor beta-lactamice și o condiție pentru efectul lor antibacterian, care este îndreptat către sinteza peretelui celular bacterian.

Peretele celular apare la aproape toate bacteriile și este construit din lanțuri lungi de polizaharide care formează o coloană de N-acetilglucozamină și derivatul său lactil.

Aceste lanțuri de polizaharide sunt legate între ele prin peptide pentru a forma structura numită peptidoglican.

Stabilitatea peretelui celular depinde de legăturile peptidice. Acestea sunt formate dintr-o secvență de reacții biochimice cunoscute, în care o pentapeptidă legată de o monozaharidă și care conține un diaminoaminoacid (lizină sau acid diaminopimelic) cu două D-alanine la capăt este transportată prin membrana celulară în afara membranei celulare, unde se formează peretele celular [16].

Rezistența la betalactamaze foarte răspândită printre bacteriile patogene se datorează în mare parte transferului orizontal al genelor betalactamazei de la bacterie la bacterie, de asemenea în mod promiscuu între speciile înrudite.

Primul transfer orizontal al activității betalactamazei descoperit între bacterii a fost descris în 1963 de Naomi Datta la Londra și Polyxeni Kontomichalou la Atena.

Betalactamaza studiată de acești doi bacteriologi a devenit cunoscută sub denumirea de TEM după pacientul grec (Temoniera) de la care fusese izolată tulpina purtătoare de betalactamaze de *E. coli*.

Datta și Kontomichalou au putut arăta că gena care exprimă enzima TEM a fost purtată pe o plasmidă transferabilă, care prin mecanismul său de conjugare s-ar putea transfera de la bacterie la bacterie [22].

3.4. Rezistența la chinolone

Acidul nalidixic este substanța originală a grupului de agenți antibacterieni sintetici numiți chinolone.

A fost descoperit într-un program de sinteză bazat inițial pe observarea proprietăților antibacteriene ale unei oxochinoline, găsită ca produs secundar al sintezei industriale a clorochinei, medicamentul împotriva malariei.

Această observație și un program de screening de urmărire a avut loc la începutul anilor 1960 și a produs, începând cu acidul nalidixic, o serie de derivați sintetici care au devenit unul dintre cele mai importante grupuri de remedii în terapia antibacteriană.

Ele sunt distribuite ca agenți antibacterieni ieftini și eficienți, în special împotriva infecțiilor tractului urinar cauzate de enterobacterii gram-negative [19].

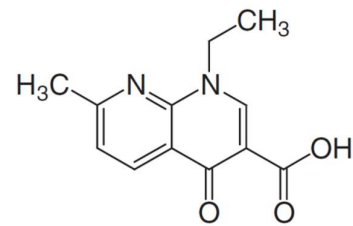


Fig. 12. Acidul nalidixic

Chinolonele au un efect selectiv și bactericid interferând cu replicarea ADN-ului bacterian.

Cu toate acestea, ele nu interferează cu sinteza ADN-ului, ci cu acele modificări ale conformației prin care molecula de ADN trebuie să treacă la replicare și diviziunea celulară.

Lungimea moleculară a ADN-ului bacterian este de aproximativ 1300 μm , în timp ce celula bacteriană tipică are un diametru de aproximativ 1 μm .

Pentru a se acomoda în celulele fiice, după replicare, cele două copii ADN trebuie să adopte o structură mai compactă [26].

AND girază este o enzimă care are patru subunități identice în perechi: două subunități A (97 kDa) și două subunități B (90 kDa).

Pe parcursul reacției enzimatice, cele două catene de ADN sunt tăiate și se leagă covalent de cele două subunități A.

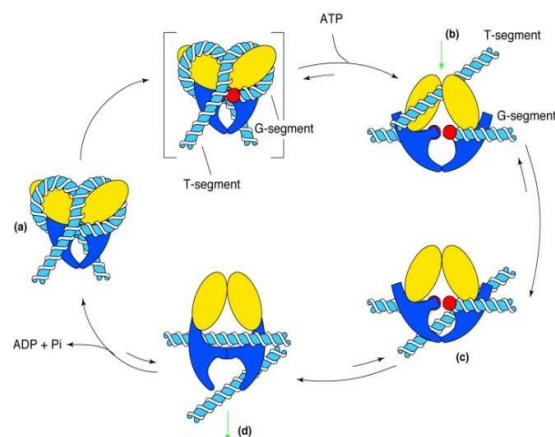


Fig. 13. Moartea bacteriană datorită ADN-girazei
Sursa: [https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X\(98\)01311-0](https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X(98)01311-0) [37]

Chinolonele funcționează prin legarea de complexul enzimă-ADN în această stare, inhibând astfel relegarea catenelor de ADN scindate.

Reacția de supraspiralizare, care este foarte importantă pentru replicarea celulei bacteriene, este apoi oprită ireversibil la jumătate, ducând la moartea celulei, deoarece etapa blocată în formarea finală a ADN-ului celular va fi în cele din urmă recunoscută de enzimele celulare pentru corectarea erorilor ADN, ceea ce duce la degradarea ADN-ului.

Chinolonele au astfel un efect bactericid.

Enzimele corespunzătoare cu funcție de girază în celulele de mamifere umane sunt atât de diferite din punct de vedere structural încât nu sunt recunoscute de chinolone, care sunt apoi selective în acțiunea lor asupra bacteriilor [18].

Rapoarte unice cu privire la rezistența plasmidelor la chinolone au fost publicate la mijlocul anilor 1980, dar observațiile din acestea nu au fost niciodată verificate și un mecanism nu a putut fi definit.

Rezistența transferabilă la chinolone a fost mult timp considerată imposibilă din punct de vedere biologic. Această opinie sa bazat pe cunoștințele disponibile cu privire la mecanismele rezistenței plasmide la agenții antibacterieni [4].

Chinolonele sunt substanțe complet sintetice care nu puteau fi imaginate ca substraturi pentru degradarea sau modificarea enzimelor originare din organismele vii, ajungând în final în agenți patogeni sub presiunea de selecție a unei mari distribuții de chinolone, toate în analogie cu, de exemplu, betalactamaze. Dar, la sfârșitul anilor 1990, spre marea surpriză a tuturor microbiologilor, rezistența la chinolone pe bază de plasmide a fost demonstrată.

Descoperirea inițială a fost într-un izolat clinic de *K. pneumoniae* dintr-o cultură urinară observată într-un laborator clinic din Birmingham, Alabama [22].

3.5. Rezistența la aminoglicozide

Streptomicina a fost considerată al doilea antibiotic descoperit (după penicilină) în istoria

agenților antibacterieni utili din punct de vedere clinic și este un antibiotic în adevăratul sens, izolat inițial din bacteria ce se găsește în sol *Streptomyces griseus*.

Streptomicina a fost descoperită la începutul anilor 1940 în laboratorul lui Selman Waksman de la Universitatea Rutgers [31].

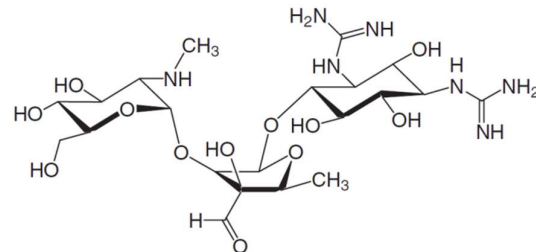


Fig. 14. Structura streptomicinei

Aceasta fost primul agent antibacterian care putea fi folosit pentru tratarea tuberculozei, împotriva căruia penicilina la acea vreme nu avea efect.

Mai multe medicamente antibacteriene înrudite chimic cu streptomicina au fost izolate de la alte specii de *Streptomyces*. Ele sunt numite aminoglicozide după o caracteristică comună în structura lor chimică.

Toate funcționează prin inhibarea sintezei proteinelor în bacterii. Trebuie menționate patru aminoglicozide utilizate clinic: tobramicina, gentamicina, amikacina și netilmicina.

Acțiunea antibacteriană a acestor patru aminoglicozide are un mecanism similar, iar mecanismele moleculare de rezistență la acestea sunt și ele, similare [5].

Efectul antibacterian al streptomicinei funcționează prin legarea selectivă a medicamentului de partea mai mică a ribozomului bacterian, inhibând sinteza proteinelor bacteriene.

Această componentă mai mică a ribozomului bacterian este particula 30S: S de la unitatea Swedberg, care definește viteza de sedimentare a acestei particule în câmpul gravitațional al unei ultracentrifugi.

Streptomicina are un spectru larg de activitate, inhibând atât bacteriile gram-negative, cât și gram-pozitive [16].

Rezistența ridicată la streptomicina și alte aminoglicozide în contexte clinice este de obicei mediată de gene transferate orizontal care

exprimă enzimele de inactivare a medicamentelor în bacteriile patogene.

Aceste reacții de inactivare sunt de trei tipuri: fosforilare, adenilare și acetilare, prin care aminoglicozida este modificată pentru a nu se putea lega de ribozomul bacterian.

Genele pentru enzimele de inactivare a aminoglicozidelor se răspândesc în mod orizontal prin transpozoni și plasmide, însă originile lor sunt puse sub semnul întrebării [30].

Bibliografie

1. **Akinjogunla OJ, Enabulele, IO. (2010)**, Virulence Factors, Plasmid Profiling and Curing analysis of Multi- drug Resistant *Staphylococcus aureus* and Coagulase negative *Staphylococcus spp.* isolated from Patients with Acute Otitis Media *Journal of American Science*; 6(11).
2. **Carattoli A, (2013)**, Plasmids and the spread of resistance, *International Journal of Medical Microbiology*, Special Issue Antibiotic Resistance, 303(6–7):298-304.
3. **San Millan A, (2018)**, Evolution of Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance in the Clinical Context, *Trends in Microbiology*, 26(12).
4. **Andriole VT, (2005)**. The quinolones: past, present, and future. *Clinical Infectious Diseases*. 41(S2): 113-9.
5. **Baquero F, Martínez JL, F Lanza V, Rodríguez-Beltrán J, Galán JC, San Millán A, Cantón R, Coque TM. (2021)** Evolutionary Pathways and Trajectories in Antibiotic Resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2021 Dec 15;34(4): e0005019.
6. **Branger C, Ledda A, Billard-Pomares T, Doublet B, Fouteau S, Barbe V, Roche D, Cruveiller S, Médigue C, Castellanos M, Decré D, Drieux-Rouze L, Clermont O, Glodt J, Tenaillon O, Cloeckaert A, Arlet G, Denamur E. (2018)**, Extended-spectrum β -lactamase-encoding genes are spreading on a wide range of *Escherichia coli* plasmids existing prior to the use of third-generation cephalosporins. *Microb Genom*. 4(9): e000203.
7. **Brown TA (2010)**. "Chapter 2 – Vectors for Gene Cloning: Plasmids and Bacteriophages". *Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction*, 6th Edition. Wiley-Blackwell. ISBN 978-1405181730.
8. **Cushnie, TP, O'Driscoll NH, Lamb AJ, (2016)**. Morphological and ultrastructural changes in bacterial cells as an indicator of antibacterial mechanism of action. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 73 (23): 4471–4492.
9. **Yurtsev EA, Chao HX, Datta MS, Artemova T, Gore J, (2013)**, Bacterial cheating drives the population dynamics of cooperative antibiotic resistance plasmids, *Molecular Systems Biology* (2013)9:683
10. **Fisher JF, Meroueh SO, Mobashery S. (2005)**. Bacterial resistance to β -lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chemical Reviews*. 105 (2): 395–424.
11. **Gama JA, Zilhão R, Dionisio F. (2018)**, Impact of plasmid interactions with the chromosome and other plasmids on the spread of antibiotic resistance. *Plasmid*. 99:82-88.
12. **Given C, Penttinen R, Jalasvuori M. (2022)** Plasmid Viability Depends on the Ecological Setting of Hosts within a Multiplasmid Community. *Microbiol Spectr*. 10(2):e0013322.
13. **Hayakawa M, Tokuda M, Kaneko K, Nakamichi K, Yamamoto Y, Kamijo T, Umeki H, Chiba R, Yamada R, Mori M, Yanagiya K, Moriuchi R, Yuki M, Dohra H, Futamata H, Ohkuma M, Kimbara K, Shintani M. Hitherto (2022)**. Unnoticed Self-Transmissible Plasmids Widely Distributed among Different Environments in Japan. *Appl Environ Microbiol*. 22;88(18): e0111422.
14. **Huovinen P (2001)**. Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole. *Clinical Infectious Diseases*. 32 (11): 1608–14.
15. **Kent M (2000)**. *Advanced Biology*. Oxford University Press. ISBN 978-0-19-914195-1.
16. **Alekshun MN, Levy S.B. (2007)**. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance *Cell*, 128, 1037-1050.
17. **Skold O (2011)**. *Antibiotics and antibiotic resistance*, John Wiley & Sons, Inc. ePDF ISBN: 978-1-118-07556-2.
18. **Oliveira PH, Prather KJ, Prazeres DM, Monteiro GA (August 2010)**. Analysis of DNA repeats in bacterial plasmids reveals the potential for recurrent instability events. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 87 (6): 2157–67.

19. **Owens RC, Ambrose PG (July 2005).** Antimicrobial safety: focus on fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*. 41 Suppl 2: S144–57.
20. **Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO (2018).** Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev*. 31(4): e00088-17.
21. **Robertson J, Bessonov K, Schonfeld J, Nash JHE. (2020)** Universal whole-sequence-based plasmid typing and its utility to the prediction of host range and epidemiological surveillance. *Microb Genom*. 2020 Oct;6(10): mgen000435.
22. **Rossi S (ed.) (2004).** Australian Medicines Handbook. Adelaide: Australian Medicines Handbook. ISBN 0-9578521-4-2.
23. **Ghosh S, Mahapatra NR, Ramamurthy T, Banerjee PC (2000).** Plasmid curing from an acidophilic bacterium of the genus *Acidocella*, *FEMS Microbiology Letters* 183, 271-274.
24. **San Millan A, MacLean RC (2017).** Fitness Costs of Plasmids: a Limit to Plasmid Transmission. *Microbiol Spectr*. 2017 Sep;5(5).
25. **Santer M, Uecker H. (2020),** Evolutionary Rescue and Drug Resistance on Multicopy Plasmids. *Genetics*. 215(3):847-868.
26. **Schaumann R, Rodloff AC (January 2007).** Activities of Quinolones Against Obligately Anaerobic Bacteria. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*. 6 (1): 49–56.
27. **Scholar, Eric, Enna, S. J.; Bylund, David B. (2007),** "Sulfanilamide", xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference, New York: Elsevier, pp. 1–5, ISBN 978-0-08-055232-3.
28. **Smillie C, Garcillán-Barcia MP, Francia MV, Rocha EP, de la Cruz F (2010).** Mobility of plasmids. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 74 (3): 434–52.
29. **Summers DK (1996).** "Chapter 1 – The Function and Organization of Plasmids". *The Biology of Plasmids (First ed.)*. Osney, Oxford OX: Wiley-Blackwell. pp. 21–22. ISBN 978-0-632-03436-9.
30. **Thomas CM, Summers D (2008).** "Bacterial Plasmids". *Encyclopedia of Life Sciences*. ISBN 978-0-470-01617-6.
31. **Wormser GP, Chambers HF. (2001).** "The Antimicrobial Drugs, Second Edition by Eric Scholar and William Pratt New York: Oxford University Press, 2000. 607 pp.
32. <https://cdn.britannica.com/33/21033-050-10D53657/Joshua-Lederberg-1958.jpg>
33. <https://fineartamerica.com/featured/coloured-tem-of-dna-plasmid-showing-two-genes-pa-mcturk-university-of-leicester--david-parkerscience-photo-library.html>
34. <https://www.expmndm.ox.ac.uk/modernising-medical-microbiology>
35. https://www.nationalreviewofmedicine.com/issue/2007/07_30/4_advances_medicine_13.html
36. <https://schoolbag.info/biology/mcat/mcat.files/image014.jpg>
37. [https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X\(98\)01311-0](https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X(98)01311-0)