



LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ ỨC CHẾ TỐI THIỂU (MIC) VÀ SỰ XUẤT HIỆN CÁC GEN MÃ HÓA CARBAPENEMASE CỦA CÁC CHỦNG ACINETOBACTER BAUMANNII PHÂN LẬP TẠI MỘT SỐ BỆNH VIỆN Ở VIỆT NAM

Tổng Biên tập:

TS. Nguyễn Phương Sinh

Ngày nhận bài:

6/9/2023

Ngày chấp nhận đăng bài:

20/9/2023

Ngày xuất bản:

29/9/2023

Bản quyền: @ 2023

Thuộc Tạp chí Khoa học và công nghệ Y Dược

Xung đột quyền tác giả:

Tác giả tuyên bố không có bất kỳ xung đột nào về quyền tác giả

Địa chỉ liên hệ: Số 284,

đường Lương Ngọc

Quyến, TP. Thái Nguyên,

tỉnh Thái Nguyên

Email:

tapchi@tnmc.edu.vn

Vũ Nhị Hà¹, Doãn Thùy Dung¹, Trần Huy Hoàng²

1 Trường Đại học Y-Dược, Đại học Thái Nguyên

2 Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương

* Tác giả liên hệ: vunhiha.dhytn@gmail.com

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Ngoài các yếu tố độc lực, khả năng đề kháng kháng sinh đã giúp *A. baumannii* trở thành căn nguyên gây nhiễm khuẩn bệnh viện thường gặp nhất. Các nghiên cứu về cơ chế kháng carbapenem tại Việt Nam cũng theo xu hướng chung là tập trung vào cơ chế kháng phổ biến sinh enzyme carbapenemase. **Mục tiêu:** Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của một số kháng sinh với các chủng *A. baumannii*, tìm mối liên quan giữa mức độ kháng carbapenem và sự xuất hiện các gen mã hóa carbapenemase. **Phương pháp:** 51 chủng *A. baumannii* phân lập từ 6 bệnh viện thuộc 3 miền ở Việt Nam. Tách chiết và tinh sạch DNA, sau đó giải trình tự thế hệ mới. Trình tự đọc chất lượng cao được lắp ráp de novo bằng phần mềm SPAdes 3.13.0, dự đoán gene và chú giải chức năng bằng phần mềm Prokka. **Kết quả:** 8/9 kháng sinh bị kháng trên 70%, 88% số chủng kháng cả 2 kháng sinh thuộc nhóm carbapenem với MIC₅₀, MIC₉₀ lần lượt là 32-64 µg/ml và >64 µg/ml. Tỷ lệ kháng thấp nhất là colistin (29%) và phân bố dải MIC của colistin từ 1 - 8 µg/ml; MIC₅₀ = 1 µg/ml, MIC₉₀ = 4 µg/ml. Qua sàng lọc gen kháng kháng sinh của 51 chủng từ 4 cơ sở dữ liệu ARG-ANNOT, NCBI, CARD và ResFinder thu được 52 gen kháng kháng sinh, trong đó có 22 gen mã hóa carbapenemase. Nồng độ MIC tăng dần ở các chủng mang đồng thời nhiều gen carbapenemase và càng nhiều gen kháng thì tỷ lệ kháng càng nhiều hơn với nồng độ MIC càng cao. **Kết luận:** Có mối liên quan giữa MIC với sự xuất hiện một số gen mã hóa carbapenemase (blaOXA-23, blaOXA-66) ở các chủng *A.*

baumannii. Colistin trở thành liệu pháp điều trị cuối cùng trong các trường hợp nhiễm trùng do A. baumannii đa kháng.

Từ khóa: Acinetobacter baumannii; Đa kháng thuốc lâm sàng; Gen kháng kháng sinh; Giải trình tự gen thế hệ mới; Tin sinh học

THE RELATIONSHIP BETWEEN MIC (MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION) AND THE OCCURRENCE OF CARBAPENEMASE-ENCODING GENES IN ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLATES FROM SOME HOSPITALS IN VIETNAM

Vu Nhi Ha^{1*}, Doan Thuy Dung¹, Tran Huy Hoang²

¹ Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy

² National Institute of Hygiene and Epidemiology

Author contact: vunhiha.dhytn@gmail.com

ABSTRACT

Background: In addition to virulence factors, the ability to resist antibiotics has helped A. baumannii become the most common cause of hospital-acquired infection. Studies on carbapenem resistance mechanisms in Vietnam have also focused on the common mechanism of carbapenemase enzyme resistance.

Objectives: To determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of certain antibiotics against A. baumannii strains, and find the correlation between carbapenem resistance and the presence of carbapenemase encoding genes.

Methods: 51 A. baumannii strains isolated from 6 hospitals across 3 regions in Vietnam. DNA extraction and purification, followed by next-generation sequencing. High-quality reads were de novo assembled using SPAdes 3.13.0 software, gene prediction and annotation were done using Prokka software. **Results:** 8 out of 9 antibiotics showed resistance above 70%, with 88% of the strains resistant to both carbapenem antibiotics, with MIC₅₀ and MIC₉₀ values of 32-64 µg/ml and >64 µg/ml respectively. The lowest resistance rate was seen with colistin (29%) and the MIC range for colistin was 1 - 8 µg/ml; MIC₅₀ = 1 µg/ml, MIC₉₀ = 4 µg/ml. Screening the antibiotic resistance genes of the 51 strains from 4 databases (ARG-ANNOT, NCBI, CARD, and ResFinder) resulted in 52

antibiotic resistance genes, including 22 genes encoding carbapenemases. The results showed an increasing MIC concentration in strains carrying multiple carbapenemase genes, with higher levels of resistance associated with higher MIC concentrations. **Conclusions:** There is a correlation between MIC and the presence of certain carbapenemase-encoding genes (blaOXA-23, blaOXA-66) in *A. baumannii* strains. Colistin has become the last line of defense in the treatment of multidrug-resistant *A. baumannii* infections.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*; Clinical multidrug resistance; Antibiotic resistance gene; Next generation sequencing; Bioinformatics

ĐẶT VẤN ĐỀ

Acinetobacter baumannii là tác nhân quan trọng hàng đầu gây nhiễm khuẩn trong bệnh viện thu hút được sự quan tâm rất lớn hiện nay do có khả năng kháng kháng sinh rất mạnh mẽ. Do đó, Tổ Chức Y Tế Thế Giới (World Health Organization's -WHO) đã xếp *A. baumannii* đứng đầu danh sách nguồn bệnh cần được ưu tiên để phát triển các loại kháng sinh mới¹. *A. baumannii* có thể đề kháng với tất cả các kháng sinh hiện có sử dụng trên lâm sàng do có cơ chế đề kháng kháng sinh phong phú. Tuy nhiên, sinh enzyme carbapenemase vẫn là cơ chế kháng carbapenem chủ yếu ở *A. baumannii*. Nhiều loại carbapenemase nhóm A, B, D đã được tìm thấy ở *A. Baumannii*². Tại Việt Nam, khả năng gây bệnh và mức độ kháng kháng sinh của *A. baumannii* đang gia tăng đáng báo động. Một số gen mã hóa carbapenemase ở *A. baumannii* thường gặp là bla_{OXA}-51, bla_{OXA}-23, bla_{OXA}-58. Ngoài các bệnh viện tuyến Trung ương, một số bệnh viện tuyến tỉnh và khu vực cũng đã xuất hiện các chủng *A. baumannii* mang gen bla_{NDM-1} và phối hợp với nhiều hơn 2 gen mã hóa carbapenemase khác trên một chủng³⁻⁴. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định kiểu hình kháng sinh đồ, giải trình tự thể hệ mới bằng máy Illumina MiSeq, lắp ráp *de novo*, dự đoán gene, chú giải chức năng, sàng lọc gene kháng kháng sinh và gene mã hóa carbapenemase cho các chủng *A. baumannii*. Do hoạt tính thủy phân kháng sinh của từng loại carbapenemase khác nhau nên mức độ đề kháng kháng sinh có thể khác nhau. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của một số kháng*

sinh với các chủng *A. baumannii* và tìm mối liên quan giữa mức độ kháng carbapenem và sự xuất hiện các gen mã hóa carbapenemase. Những kết quả này là nguồn thông tin quan trọng cho việc nghiên cứu tình hình đa kháng lâm sàng của *A.baumannii* tại Việt Nam.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 51 chủng *A. baumannii* phân lập từ 6 bệnh viện gồm: Hữu Nghị, 108, Thanh Nhân, Xanh Pôn, Trung ương Huế và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Cần Thơ thuộc 3 miền ở Việt Nam.

Thời gian nghiên cứu: 2017-2019.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng Kháng kháng sinh - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Thiết kế nghiên cứu cắt ngang đa trung tâm.

Kỹ thuật nuôi cấy và phân lập vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn được thu thập sẽ được phân lập theo quy trình chuẩn của các bệnh viện. Các chủng sau đó được chuyển về Viện VSDTTƯ nuôi cấy lại trên thạch Mac-Conkey, tách khuẩn lạc thuần, riêng rẽ cấy sang môi trường thạch dinh dưỡng không có chất ức chế (thạch Luria-Bertani). Định danh lại các chủng bằng hệ thống khối phổ Maldi Biotyper (Bruker Daltonik, Đức). Lưu trữ mẫu trong thời gian dài bằng cách lấy 4 - 5 khuẩn lạc hòa vào 1ml dung dịch Luria-Bertani + 25% glycerol đã hấp tiệt trùng rồi bảo quản ở -70 đến -80°C.

Kỹ thuật xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Tiến hành kỹ thuật xác định MIC bằng phương pháp pha loãng kháng sinh trong thạch Mueller-Hinton (MH) theo hướng dẫn của CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁵. Thử nghiệm MIC với 9 loại kháng sinh thuộc 4 nhóm kháng sinh khác nhau: imipenem (IMP), meropenem (MEM) là đại diện cho nhóm carbapenem; ceftazidime (CAZ) và cefepime (FEP) là đại diện cho nhóm cephalosporin; gentamycin (GEN) và amikacin (AK) là đại diện cho nhóm amino glycosid; ciprofloxacin (CIP) và levofloxacin (LEV) là đại diện cho nhóm Floruo quinolone. Tiến

hành kỹ thuật MIC bằng phương pháp vi pha loãng kháng sinh trong canh thang MH Broth áp dụng riêng theo hướng dẫn của CLSI và EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility)⁶. Chúng chuẩn *A.baumannii* ATCC 19606, *P. aeruginosa* ATCC 27853 và *Escherichia coli* NCTC 13846 được dùng làm chứng dương cho thử nghiệm.

Tách chiết DNA, tạo thư viện và giải trình tự thế hệ mới

Tách chiết DNA vi khuẩn sử dụng kit thương mại QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất kèm theo bộ kit. Độ tinh sạch và nồng độ DNA được đánh giá dựa trên phương pháp điện di gel và quang phổ kế Nanodrop (Eppendorf BioSpectrometer, Đức). DNA tinh sạch sau đó được tiến hành xây dựng thư viện giải trình tự thế hệ mới bằng bộ kit Nextera XT DNA Sample Prep Kit (Illumina, Mỹ) theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất. Thư viện sau khi chuẩn bị sẽ được giải trình tự trên máy Illumina MiSeq bằng phương pháp đọc single-end với độ dài 250-bp sử dụng bộ kit Miseq V3 600 cycles reagent Kit (Illumina, Mỹ).

Lắp ráp, dự đoán và chú giải gene kháng kháng sinh trên hệ gene của A.baumannii

Dữ liệu trình tự đọc thô sau khi giải trình tự sẽ được đánh giá chất lượng và tiền xử lý nhằm loại bỏ các adaptor, primer cũng như những đoạn trình tự có chất lượng thấp thông qua phần mềm FastQC và Trimmomatic 0.36. Trình tự đọc chất lượng cao sau khi tinh sạch sẽ được lắp ráp *de novo* bằng phần mềm SPAdes 3.13.0. Chất lượng lắp ráp sẽ được đánh giá thông qua phần mềm QUAST. Sau đó hệ gen lắp ráp sẽ được dự đoán gen và chú giải chức năng bằng phần mềm Prokka.

Phân tích và xử lý số liệu

Dữ liệu được đưa vào các phần mềm tin sinh học và số liệu quản lý bằng phần mềm excel.

Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu này được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương thông qua, Mã số: IRB-VN01057-38/2016.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Mức độ nhạy cảm kháng sinh của A. baumannii

Phân tích 51 chủng *A. baumannii* thu thập tại 6 bệnh viện bao

gồm: Thanh Nhàn (n=21), Xanh Pôn (n=14), Hữu Nghị (n=7), 108 (n=5)), Huế (n=1), Cần Thơ (n=3).

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm nồng độ kháng sinh tối thiểu ức chế sự phát triển của *A. baumannii* (n=51)

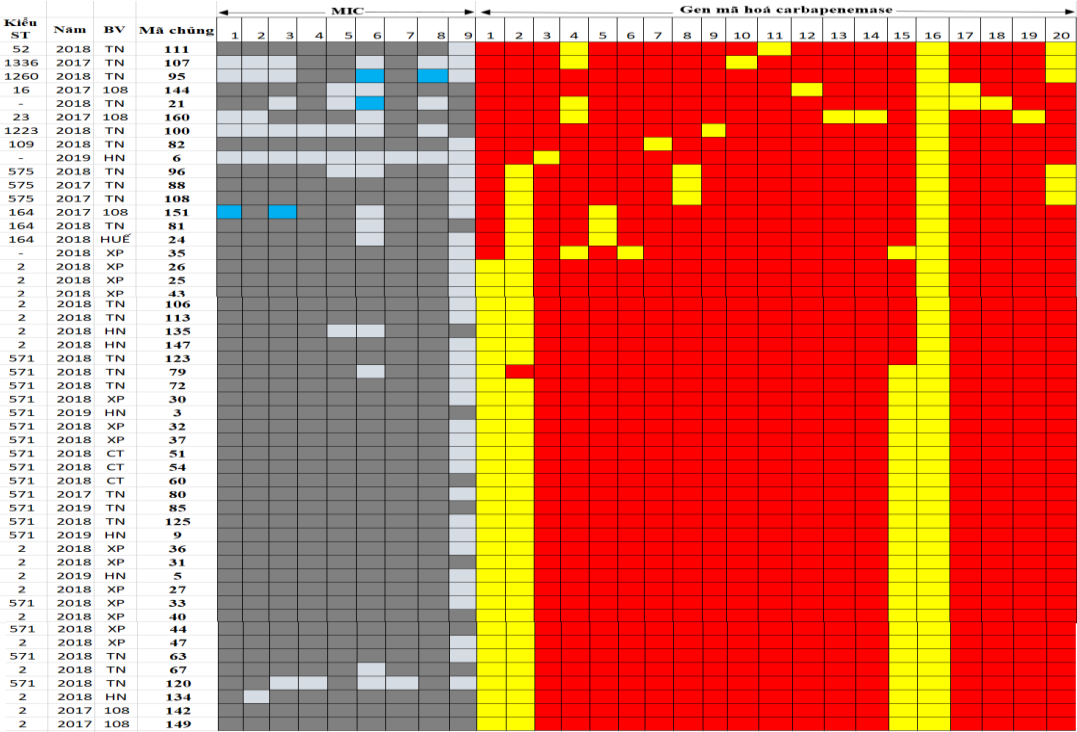
Nhóm kháng sinh	KS	Dải MIC µg/ml	MIC ₅₀ µg/ml	MIC ₉₀ µg/ml	N (%) (MIC µg/ml)		
					R	I	S
Cephalosporin	FEP	2- >128	128	>128	48 (94) (32- >128)	0	3 (6) (2-8)
	CAZ	2->128	>128	>128	47 (92) (64- >128)	0	4 (8) (2-8)
Floruo quinolone	CIP	0,0625->32	32	>32	45 (88) (16->32)	1 (2) (2)	5 (10) (0,0625-0,5)
	LEV	0,06->64	>64	>64	44 (86) (8->64)	1 (2) (4)	6 (12) (0,06-1)
Amino glycosid	GEN	0,125->64	>64	>64	44 (86) (32->64)	0	7 (14) (0,125-4)
	AK	0,5->256	>256	>256	35 (69) (≥256)	2 (4) (32)	14 (27) (0,5-16)
Carbapenem	IMP	0,125->64	64	>64	45 (88) (8- >64)	1 (2) (4)	5 (10) (0,125-2)
	ME M	0,125->64	32	>64	45 (88) (8->64)	0	6 (12) (0,125-1)
Polymixin	CS	0,125- ≥ 4	1	4	15 (29) (4-8)	-	36 (71) (1-2)

Ghi chú: R: kháng hoàn toàn; I: kháng trung gian; S: nhạy cảm.
 Kết quả Bảng 1 cho thấy *A. baumannii* đa kháng với các kháng sinh với giá trị MIC cao: levofloxacin (88%, 45/51), ceftazidime (92%,47/51), gentamicin (86%, 44/51), amikacin (73%, 37/51),

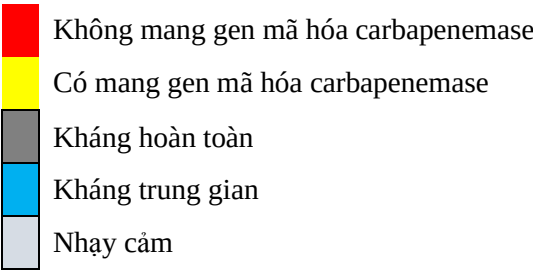
cefepime (94%, 48/51), imipenem (90%, 46/51), ciprofloxacin (90%, 46/51), meropenem (88%, 45/51), colistin (29%, 15/51).

Mối liên quan giữa MIC và sự xuất hiện các gen mã hóa carbapenemase

Kết quả ghi nhận các chủng *A. baumannii* phân lập tại 6 bệnh viện mang các gen mã hoá carbapenemase thuộc cả 3 nhóm: nhóm A (*blaPER*, *blaVEB*, *blaTEM*), nhóm B (*blaNDM*, *blaIMP*), nhóm C (*blaADC*) và nhóm D (họ *blaOXA*) (Bảng 2). Gen *blaOXA*-23 là gen mã hoá carbapenemase nhóm A phổ biến nhất chiếm 82,35% (42/51 chủng), kế tiếp là gen *blaOXA*-66 chiếm 68,62% (35/51).



Hình 1. Mối liên quan giữa MIC và sự xuất hiện các gen mã hóa carbapenemase



Chú giải: BV (Bệnh viện), TN (BV Thanh Nhàn), XP (BV Xanh Pôn), HN (BV Hữu Nghị), CT (BV Cần Thơ)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
IMP	MEM	LEV	CAZ	GEN	AMK	FEP	CIP	CO

1	2	3	4	5	6	7
---	---	---	---	---	---	---

blaOXA-66 *blaOXA-23* *blaOXA-70* *blaOXA-58* *blaOXA-91* *blaOXA-557* *blaOXA-67*

8	9	10	11	12	13	14
---	---	----	----	----	----	----

blaOXA-144 *blaOXA-510* *blaOXA-51* *blaOXA-98* *blaOXA-402* *blaOXA-10* *blaOXA-68*

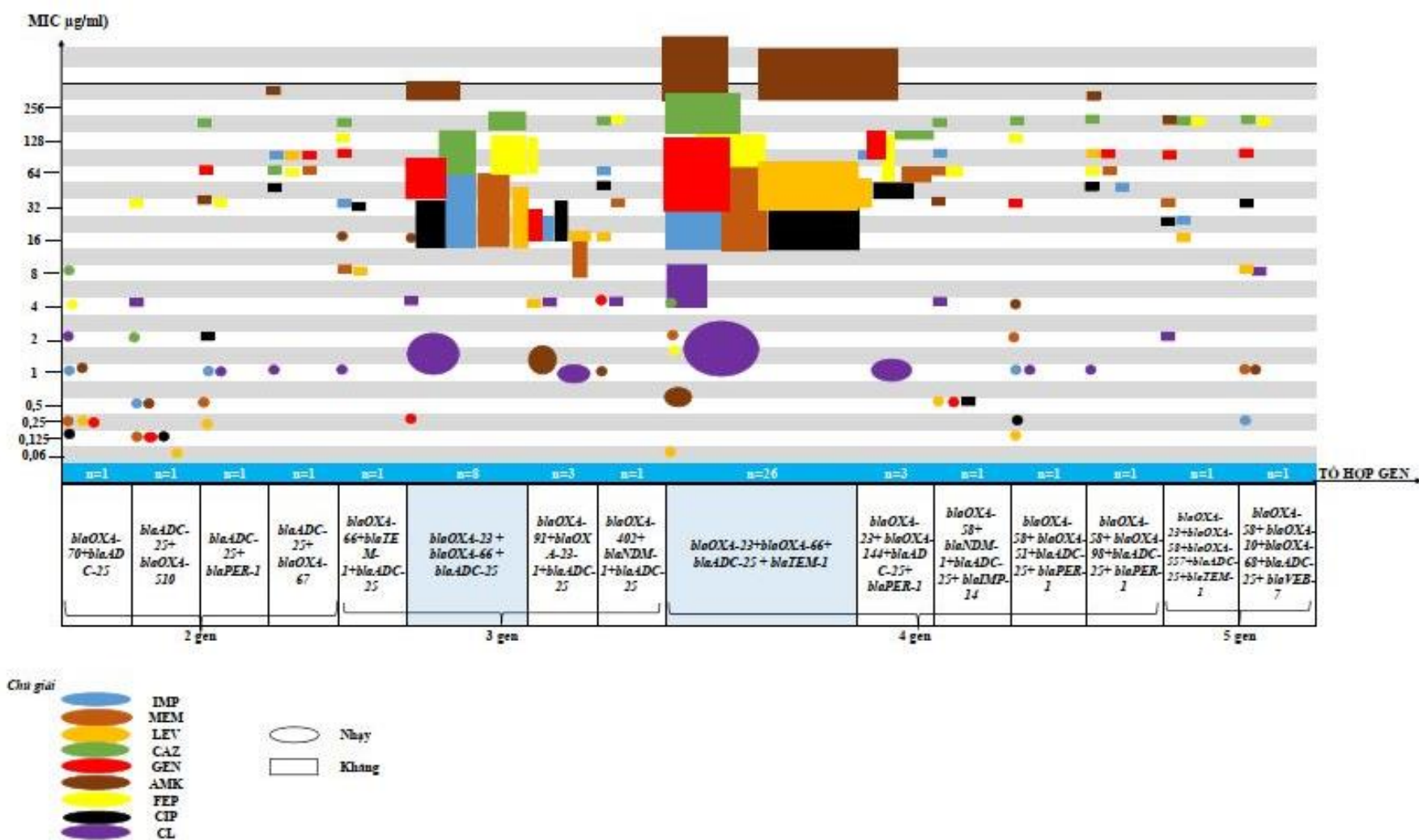
15	16	17	18	19	20
----	----	----	----	----	----

blaTEM-1 *blaADC-25* *blaNDM-1* *blaIMP-14* *blaVEB-7* *blaPER-1*

Gen mã hóa carbapenemase	Mức độ kháng	Số lượng chủng vi khuẩn và nồng độ MIC ứng với mức độ kháng n (µg/ml)								
		IMP	MEM	LEV	CAZ	GEN	AMK	FEP	CIP	CO
23+blaADC-25(n=8)	Nhạy	0	0	0	0	1(0,25)	1(16)	0	0	7 (1-2)
blaOXA-91+blaOXA23-1+blaADC-25(n=3)	Kháng	2(16-32)	3(8-32)	2(16)	3(>128)	3 (16- >64)	0	3(64- 128)	3 (16->32)	1(4)
	Trung gian	1(4)	0	1(4)	0	0	0	0	0	0
	Nhạy	0	0	0	0	0	3(1-4)	0	0	2(1)
blaOXA402-1+blaNDM-1+blaADC-25(n=1)	Kháng	1(64)	1(32)	1(16)	1(>128)	0	0	1(>128)	1(>32)	1(4)
	Trung gian	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nhạy	0	0	0	0	1(4)	1(1)	0	0	0
blaADC-25 + blaOXA-23+blaOXA-66+blaTEM-1 (n=26)	Kháng	26(16- >64)	26(16->64)	25(32->64)	25 (≥128)	26(32- >64)	24(≥256)	25 (32->128)	26 (16->32)	10 (4-8)
	Trung gian	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nhạy	0	0	1 (0,06)	1(4)	0	2 (0,5-16)	1(2)	0	16(1-2)
blaOXA23-1+blaOXA-144+blaADC-25+blaPER-1(n=3)	Kháng	3(>64)	3 (64)	3(32, >64)	3 (≥128)	2 (>64)	2 (>256)	3 (64-128)	3 (>32)	0
	Trung gian	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nhạy	0	0	0	0	1(0,5)	1 (16)	0	0	3(1)
blaOXA58+blaNDM-1+blaADC-25+blaIMP-14(n=1)	Kháng	1(>64)	1(64)	0	1(>128)	0	0	1 (64)	1 (0.5)	1 (4)
	Trung gian	0	0	0	0	0	1 (32)	0	0	0
	Nhạy	0	0	1(0,5)	0	1(0,5)	0	0	0	0
	Kháng	0	0	0	1(>128)	1(32)	0	1(128)	0	0

Gen mã hóa carbapenemase	Mức độ kháng	Số lượng chủng vi khuẩn và nồng độ MIC ứng với mức độ kháng n (µg/ml)								
		IMP	MEM	LEV	CAZ	GEN	AMK	FEP	CIP	CO
<i>blaOXA58+</i>	Trung gian	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>blaOXA51+blaADC-25+ blaPER-1(n=1)</i>	Nhạy	1(1)	1(2)	1(0,125)	0	0	1(4)	0	1(0,25)	1(1)
<i>blaOXA-58+</i>	Kháng	1(>64)	1(64)	1(>64)	1(>128)	1(>64)	1(>256)	1(64)	1(>32)	0
<i>blaOXA-98+blaADC-25+ blaPER-1(n=1)</i>	Trung gian	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nhạy	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)
<i>blaOXA-23+blaOXA-58+blaOXA-557+blaADC-25+blaTEM-1(n=1)</i>	Kháng	1(32)	1(32)	1(16)	1(>128)	1(>64)	1(256)	1(>128)	1(>16)	0
	Trung gian	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nhạy	0	0	0	0	0	0	0	0	1(2)
<i>blaOXA-58+</i>	Kháng	0	0	1(8)	1(>128)	1(64)	0	1(>128)	1(32)	1(8)
<i>blaOXA-10+blaOXA-68+blaADC-25+ blaVEB-7(n=1)</i>	Trung gian	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nhạy	1(0,25)	1(1)	0	0	0	1(1)	0	0	0
<i>Tổng số (n=51) (tỷ lệ %)</i>	Kháng	45 (88,2%)	45 (88,2%)	44 (86,2%)	48 (94,1%)	45 (88,2%)	36 (70,5%)	49 (96,1%)	49 (96,1%)	16 (31,4%)
	Trung gian	1 (2%)	0	1 (2%)	0	0	2 (3,9)	0	0	0
	Nhạy	5 (9,8%)	6 (11,8%)	6 (11,8%)	3 (5,9%)	6 (11,8%)	13 (25,6%)	2 (3,9%)	2 (3,9%)	35 (68,6%)

Kết quả Bảng 2 cho thấy: Tuy không mang gen *blaOXA-51* nhưng 100% chủng mang biến thể của *blaOXA-51* và gen *blaADC-25*. 45/47 chủng mang đồng thời nhiều gen mã hoá carbapenemase (>2 gen) đều kháng carbapenem trong khi các chủng chỉ mang 2 gen có 3/4 chủng nhạy với cả 2 kháng sinh này.



Hình 2. Mối liên quan giữa MIC và sự xuất hiện đồng thời nhiều gen carbapenemase

Chú giải: Từ dữ liệu Bảng 2, mỗi kháng sinh được quy ước 1 màu, hình chữ nhật là kháng kháng sinh, hình tròn là nhạy cảm. Chiều rộng và chiều cao của hình chữ nhật tương ứng với tần suất xuất hiện (n) và nồng độ MIC (μg/ml)

Có 8 chủng mang đồng thời 3 gen *blaOXA-23* + *blaOXA-66* + *blaADC-25* (n= 8) và 26 chủng mang cùng lúc 4 gen *blaOXA-23*+*blaOXA-66*+ *blaADC-25* + *blaTEM-1* (n= 26) có mức độ đề kháng cao nhất với các kháng sinh với giá trị MIC cao (Bảng 2, Hình 2).

BÀN LUẬN

Tỷ lệ *A. baumannii* kháng hoàn toàn carbapenem rất cao (88%) phù hợp với các công bố trước đây về tỷ lệ chủng *A. baumannii* chiếm ưu thế tại các bệnh viện của Việt Nam⁷. Thêm vào đó là MIC₅₀ và MIC₉₀ rất cao (MIC₅₀ và MIC₉₀ là nồng độ ức chế tối thiểu ức chế 50% và 90% tổng số chủng vi khuẩn). Cụ thể MIC₅₀ và MIC₉₀ của 2 kháng sinh carbapenem lần lượt là 64- >64 µg/ml (imipenem) và 32- >64 µg/ml (meropenem); gentamycin, levofloxacin, ceftazidime, amikacin có MIC₅₀ và MIC₉₀ đều >64 µg/ml (Bảng 1). Kết quả MIC của chúng tôi tương đồng với tỷ lệ ở 14 tỉnh thành Việt Nam trong nghiên cứu 2012-2013 và nhiều nghiên cứu Quốc tế khác⁸⁻⁹.

Kết quả sàng lọc gen mã hóa carbapenemase của chúng tôi cũng tương tự như đối với nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước khác, các gen *blaOXA* và đặc biệt là *blaOXA-23-like* là những gen mã hóa carbapenemase phổ biến nhất ở *A. baumannii* trên toàn thế giới^{7,10}. Các gen khác trong nhóm *blaOXA* chỉ xuất hiện với số lượng hạn chế: *blaOXA-58* (n=5; 9,8%) và không có chủng nào được xác định mang gen *blaOXA-24*; Tỷ lệ này tương đồng với ghi nhận của Lưu Vũ Nga tại 9 bệnh viện ở 3 miền Bắc – Trung – Nam năm 2016 là 5,6 % (8/144 chủng) và một số nghiên cứu khác trong nước^{4,11}. Gen *blaNDM* được tìm thấy với tỷ lệ thấp ở *A. baumannii* chiếm 3,9% (2/51 chủng), phù hợp với các phát hiện trước đây tại Việt Nam và trên thế giới^{3,12}. Gen *blaIMP* chỉ được tìm thấy ở 1 chủng *A. baumannii* phân lập tại Bệnh viện Thanh Nhàn trong nghiên cứu này (chủng mã số 21) và 1 chủng *A. baumannii* phân lập tại Bệnh viện Việt Đức theo ghi nhận của Trần Diệu Linh và cộng sự; trước đó ở Việt Nam chưa từng ghi nhận sự xuất hiện của gen này ở *A. baumannii*³⁻⁴.

Trong nghiên cứu vẫn còn 6/51 chủng nhạy với cả 2 kháng sinh IMP và MEM. Từ kết quả giải trình tự gen cho thấy tất cả các chủng nhạy cảm với carbapenem đều không có gen *blaOXA-66*

và đặc biệt là gen *blaOXA-23*, mặc dù vẫn chứa các gen carbapenemase khác. Điều này một lần nữa lại củng cố thêm vai trò cũng như sự phổ biến nhất liên quan đến kháng carbapenem của gen *blaOXA-23* ở *A. baumannii*.

Khi khảo sát về việc liệu sự tồn tại đồng thời của nhiều gen kháng có làm giảm tính nhạy cảm kháng sinh hay nói cách khác là tăng nồng độ MIC lên hay không, từ số liệu nghiên cứu (Bảng 2) nhận thấy 45/47 chủng mang đồng thời nhiều gen mã hoá carbapenemase (>2 gen) đều kháng carbapenem trong khi các chủng chỉ mang 2 gen có 3/4 chủng nhạy với cả 2 kháng sinh này. Dù kết quả này cho thấy có sự khác biệt lớn nhưng vì số lượng mẫu còn ít nên để kết luận đầy đủ và chính xác về ảnh hưởng của việc mang đồng thời nhiều gen lên sự tăng/giảm mức độ nhạy cảm với kháng sinh carbapenem của các chủng vi khuẩn kháng phân lập tại Việt Nam thì cần có các nghiên cứu sâu hơn và có số lượng mẫu lớn hơn.

Hình 2 thể hiện mối tương quan giữa nồng độ MIC và tác dụng hiệp đồng của nhiều gen carbapenemase. Mặc dù tỷ lệ kháng có sự khác nhau với từng tổ hợp gen, nhưng nồng độ MIC tăng dần ở các tổ hợp nhiều gen, hay nói cách khác là càng nhiều gen kháng thì tỷ lệ kháng càng nhiều hơn với nồng độ MIC càng cao. Có 8 chủng mang đồng thời 3 gen *blaOXA-23* + *blaOXA-66* + *blaADC-25* (n= 8) và 26 chủng mang cùng lúc 4 gen *blaOXA-23*+*blaOXA-66*+ *blaADC-25* + *blaTEM-1* (n= 26) có mức độ đề kháng cao nhất với các kháng sinh với giá trị MIC cao (Bảng 2, Hình 2). Một điểm đáng lưu tâm là 2 tổ hợp gen này đều có chứa đồng thời gen *blaOXA-23* và *blaOXA-66*. Điều này một lần nữa lại nhấn mạnh thêm vai trò cũng như sự phổ biến nhất liên quan đến kháng carbapenem của 2 gen carbapenemase nhóm D này ở *A. baumannii*. Dù kết quả trên đây cho thấy có mối liên quan giữa kiểu hình kháng (MIC) và các gen kháng nhưng trong khuôn khổ của nghiên cứu không đủ điều kiện để thực hiện được với số lượng mẫu đại diện cho tất cả các chủng *A. baumannii* lưu hành ở Việt Nam. Nên có những nghiên cứu tiếp theo với số lượng mẫu lớn và trên phạm vi rộng hơn để có những kết luận xác thực hơn. Trước đây, các nghiên cứu trên thế giới đã đưa ra những nhận định trái ngược về vấn đề này. Một số nghiên cứu cho rằng sự tồn tại

đồng thời của các gen mã hoá carbapenemase có làm tăng nồng độ MIC nhưng cũng có nghiên cứu lại cho thấy nồng độ MIC giữa các chủng chỉ mang đơn gen và các chủng mang đồng thời 2 gen không có sự khác biệt rõ ràng. Điều này có thể giải thích là dù vi khuẩn có thể mang nhiều gen kháng, nhưng không phải tất cả các gen đều biểu hiện và sự tồn tại của các cơ chế kháng khác cũng đóng vai trò hết sức quan trọng. Ngoài ra kiểu hình kháng của vi khuẩn còn phụ thuộc vào các yếu tố nội tại của vi khuẩn cũng như yếu tố từ môi trường bên ngoài. Tuy nhiên gần đây nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự xuất hiện đồng thời nhiều biến thể của gen *blaOXA-23* trên chromosomes và plasmid làm tăng độc lực của vi khuẩn, điều này dẫn đến nguy cơ xuất hiện và lan rộng CRAB¹³; hay plasmid chứa nhiều gen mã hóa các carbapenemase khác nhau (*blaOXA-232* là biến thể của *blaOXA-48* kết hợp với *blaNDM-1*) làm tăng đáng kể độc lực, khả năng sản xuất màng biofilm và kháng thuốc kháng sinh¹⁴.

Theo hình 2 cho thấy các chủng vi khuẩn nhạy/kháng với colistin không có mối liên quan với các gen kháng kháng sinh, trong đó có các gen carbapenemase. Ở 2 nhóm có tần suất xuất hiện và nồng độ MIC cao nhất ($n = 8$ và $n = 26$) thì đa số vẫn nhạy với colistin.

KẾT LUẬN

Kết quả cho thấy *A. baumannii* đa kháng lâm sàng với 8/9 kháng sinh thử nghiệm bị kháng trên 70% và nồng độ MIC tăng dần ở các chủng mang đồng thời nhiều gen carbapenemase, càng nhiều gen kháng thì tỷ lệ kháng càng nhiều hơn với nồng độ MIC càng cao. Có mối liên quan giữa mức độ kháng kháng sinh nhóm carbapenem với sự xuất hiện của gen *blaOXA-23* và *blaOXA-66*. Colistin trở thành liệu pháp điều trị cuối cùng trong các trường hợp nhiễm trùng do *A. baumannii* đa kháng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. WHO | Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. WHO. <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>. Accessed 17 Feb 2021.

2. Lưu Vũ Nga, Phạm Duy Thái, Trần Huy Hoàng. Mối liên quan giữa mức độ kháng carbapenem và sự xuất hiện gen mã hóa carbapenemase của các chủng *Acinetobacter baumannii* phân lập tại một số bệnh viện. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam* **62(7)**, (2020)
3. Trần Diệu Linh. *Nghiên cứu ở mức độ phân tử khả năng kháng carbapenem của một số vi khuẩn Gram âm phân lập từ bệnh nhân tại bệnh viện Việt Đức và bệnh viện Trung Ương Quân đội 108* Luận án Tiến sĩ sinh học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, (2020).
4. Lưu Thị Vũ Nga. *Một số gen mã hóa Carbapenemase và mối liên quan với mức độ kháng carbapenem của Acinetobacter baumannii tại Việt Nam* Luận án Tiến sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội, (2020).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (2017).
6. CLSI-EUCAST. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) As recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group (2016).
7. Wareth G, Linde J, Nguyen NH, Nguyen TNM, Sprague LD, Pletz MW, et al. WGS-Based Analysis of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Vietnam and Molecular Characterization of Antimicrobial Determinants and MLST in Southeast Asia. *Antibiotics* **10**, 563 (2021).
8. Hsu L-Y, Apisarnthanarak A, Khan E, Suwantararat N, Ghafur A, Tambyah PA Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and Enterobacteriaceae in south and southeast Asia. *J C microbiology reviews* **30**, 1–22 (2017).
9. Phu VD, Wertheim HFL, Larsson M, Nadjm B, Dinh Q-D, Nilsson LE, et al. Burden of Hospital Acquired Infections and Antimicrobial Use in Vietnamese Adult Intensive Care Units. *PLoS ONE* **11**, e0147544 (2016).
10. Luo Y-C, Hsieh Y-C, Wu J-W, Quyen TLT, Chen Y-Y, Liao W-C, et al. Exploring the association between capsular types,

sequence types, and carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* **59**, 106470 (2022).

11. Hoang Quoc C, Nguyen Thi Phuong T, Nguyen Duc H, Tran Le T, Tran Thi Thu H, Nguyen Tuan S, et al. Carbapenemase Genes and Multidrug Resistance of *Acinetobacter Baumannii*: A Cross Sectional Study of Patients with Pneumonia in Southern Vietnam. *Antibiot Basel* **8**, E148 (2019).

12. Alattraqchi AG, Mohd Rani F, A. Rahman NI, Ismail S, Cleary DW, Clarke SC, et al. Complete Genome Sequencing of *Acinetobacter baumannii* AC1633 and *Acinetobacter nosocomialis* AC1530 Unveils a Large Multidrug-Resistant Plasmid Encoding the NDM-1 and OXA-58 Carbapenemases. *mSphere* **6**, e01076-20 (2021).

13. Wang Z, Li H, Zhang J, Wang H. Co-Occurrence of blaOXA-23 in the Chromosome and Plasmid: Increased Fitness in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotics* **10**, 1196 (2021).

14. Haejeong Lee, Juyoun Shin, Yeun-Jun Chung, Myungseo Park, Kyeong Jin Kang, Jin Yang Baek, Dongwoo Shin, Doo Ryeon Chung, Kyong Ran Peck , Jae-Hoon Song and Kwan Soo Ko. Co-introduction of plasmids harbouring the carbapenemase genes, blaNDM-1 and blaOXA-232, increases fitness and virulence of bacterial host. *J Biomed Sci* **27**, (2020).