

TÁM GEN MỚI ĐƯỢC PHÁT HIỆN Ở HAI CHỦNG *ACINETOBACTER BAUMANNII* GÂY NHIỄM TRÙNG HỒ HẤP Ở BỆNH VIỆN ĐA KHOA THỐNG NHẤT, ĐỒNG NAI

Nguyễn Sĩ Tuấn* và Phạm Hùng Vân**

TÓM TẮT

Mở đầu: *Acinetobacter baumannii* là tác nhân gây nhiễm khuẩn bệnh viện quan trọng với khả năng phát triển một loạt các cơ chế kháng đa thuốc khác nhau. Mục tiêu nghiên cứu này, chúng tôi giải mã hệ gen chủng *A. baumannii* DMS06669, được phân lập từ bệnh phẩm đờm của một nam bệnh nhân bị viêm phổi bệnh viện và nghiên cứu tập trung vào việc xác định các gen liên quan tới sự đề kháng kháng sinh.

Phương pháp: Hệ gen *A. baumannii* DMS06669 được giải mã bằng Illumina HiSeq platform, chất lượng được kiểm soát và việc lắp ráp de novo cho tổng cộng 24 scaffold, dự đoán gen và chú giải chức năng tiếp theo với các dữ liệu trên thế giới như tRNAscan-SE, RNAmmer, Tandem Repeat Finder, CRISPR Finder, IS Finder và COG, sau đó cây phát sinh loài của chủng *A. baumannii* DMS06669 so với 21 chủng *A. baumannii* trên dữ liệu KEGG được xây dựng.

Kết quả: Việc xác định các gen kháng kháng sinh tiềm năng được tiến hành trên ResFinder cho thấy có 18 gen (với 8 gen chưa từng được ghi nhận ở *Acinetobacter baumannii*) có liên quan tới sự đề kháng 8 lớp kháng sinh.

Kết luận: Các kết quả được thiết lập trong nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra rằng cơ chế đề kháng kháng sinh đa dạng, có thể tồn tại ở chủng *A. baumannii* DMS06669 và khuyến cáo lâm sàng cho liệu pháp với các bệnh nhân nhiễm *A. baumannii*.

Từ khóa: *Acinetobacter baumannii*, đa kháng lâm sàng, carbapenem, giải trình tự hệ gen, DMS06669

SUMMARY

EIGHT NOVEL GENES IDENTIFIED AT *ACINETOBACTER BAUMANNII* CAUSED RESPIRATORY INFECTION IN THONGNHAT DONGNAI GENERAL HOSPITAL

Background: *Acinetobacter baumannii* is an important nosocomial pathogen with ability to develop a variety of multidrug resistance mechanisms.

Objective: In this study, we characterized the genome of *A. baumannii* DMS06669 strain, which was isolated from the phlegm specimen of a male patient with hospital acquired pneumonia and focused on identification of genes relevant to antibiotic resistance.

Method: The *A. baumannii* DMS0669 genome was sequenced on Illumina HiSeq platform, quality controlled, and de novo assembled to produce a total of 24 scaffolds, following gene prediction and functional annotation to public databases such as tRNAscan-SE, RNAmmer, Tandem Repeat Finder, CRISPR Finder, IS Finder and COG, then the phylogeny tree of DMS06669 strain with 21 other *A. baumannii* strains on KEGG database was constructed.

Results: The identification of potential antibiotic resistance genes was conducted on ResFinder yielding 18 genes (with 8 genes have never reported before in *A. baumannii*) related to the resistance of 8 antibiotic class.

Conclusion: This study points out that the diverse possible mechanism of antibiotic resistance, existing in *A. baumannii* DMS06669 strain and provide a clinical advice for the therapy of *A. baumannii* infected patients.

Keywords: *Acinetobacter baumannii* DMS06669, clinical multidrug-resistant, carbapenem, whole-genome sequencing.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Acinetobacter baumannii (*A. baumannii*) đã và đang được phát hiện trên khắp thế giới như là một tác nhân gây bệnh truyền nhiễm chủ yếu vì loài này có thể thích nghi mạnh mẽ với môi trường và khả năng thiết lập sự đề kháng cao với một số thuốc (đa thuốc).¹⁻³

Acinetobacter baumannii chiếm khoảng 2–10% các nhiễm trùng do vi khuẩn Gram âm ở khoa Hồi sức Tích cực (ICU) và làm tăng tỷ lệ tử vong của các bệnh nhân mắc bệnh.^{4,5}

Tuy nhiên, sự phát triển khả năng đề kháng đa thuốc ở *A. baumannii*, đặc biệt là kháng carbapenem, đã trở thành một vấn đề của thế giới.^{6,7} Những người bị nhiễm các chủng *Acinetobacter* đa kháng có thể có tỷ lệ tử vong

*Trường khoa Vi sinh, Bệnh viện Đa khoa Thống Nhất Đồng Nai, tỉnh Đồng Nai. Email: nsituan@gmail.com; Điện thoại: 0919563323

**Chủ tịch Hội Vi sinh Lâm sàng Thành phố Hồ Chí Minh

cao hơn và thời gian điều trị dài hơn ở bệnh viện hơn những người bị ảnh hưởng bởi các chủng nhạy cảm.⁸

Từ bệnh phẩm đờm của một nam bệnh nhân bị viêm phổi bệnh viện, chúng tôi dùng mẫu DNA tách chiết từ khuẩn lạc vi khuẩn phân lập và sử dụng Illumina HiSeq® platform để lắp ráp *de novo* bộ dữ liệu hệ gen chủng *A. baumannii* để có thông tin về hệ gen và các gen có liên quan đến sự đề kháng kháng sinh của chủng *A. baumannii* DMS06669. Chúng tôi xây dựng cây phát sinh loài và so sánh toàn bộ hệ gen đồng thời xác định khả năng đề kháng của DSM06669 đối với đa kháng sinh được thông qua xét nghiệm thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh và các gen kháng kháng sinh tiềm năng trong DMS06669. Việc xác định các gen này cung cấp thông tin giá trị để làm sáng tỏ các cơ chế đề kháng kháng sinh trong chủng *A. baumannii* DMS06669 và mở ra khả năng định hướng lâm sàng cho việc điều trị cho bệnh nhân nhiễm *A. baumannii*.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng *Acinetobacter baumannii* lâm sàng, DMS06669, được phân lập từ bệnh phẩm đờm của một bệnh nhân nam sinh năm 1986 bị viêm phổi bệnh viện và chủng được lưu trữ tại phòng thí nghiệm Y sinh học Phân tử, khoa Vi sinh, Bệnh viện Đa khoa Thống Nhất Đồng Nai, Việt Nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu phòng thí nghiệm

Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

- **Phân lập, định danh và thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh chủng *A. baumannii***

Mẫu bệnh phẩm đờm được cấy phân lập trên môi trường Blood Agar (BA) và MacConkey (MC). Chủng *A. baumannii* phân lập được tiếp tục chọn lọc bằng cách kiểm tra sự hiện diện của *bla_{OXA-51}* nội tại.¹⁰

Chủng *Acinetobacter baumannii* DMS06669 được định danh và thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh bằng hệ thống định danh và kháng sinh đồ tự động Phoenix, BD. Các kháng sinh được xác định điểm gãy MIC đối với chủng DMS06669 này bao gồm amikacin, aztreonam, ampicillin/sulbactam, ciprofloxacin,

ceftazidime, cefpodoxime, cefotaxime, ceftriaxone, colistin, cefepime, cefoxitin, ceftazolin, gentamicin, imipenem, meropenem, levofloxacin, trimethoprim/ sulfamethoxazole, ticarcillin/clavulanic acid, tigecycline, and piperacillin/tazobactam.

- **Giải trình tự DNA được tách chiết từ chủng *Acinetobacter baumannii* DMS06669**

Mẫu DNA được tách chiết từ khuẩn lạc của chủng *Acinetobacter baumannii* DMS06669 này được giải trình tự toàn bộ hệ gen bằng hệ thống máy Platform Hiseq 150E với kích thước trình tự đọc là 150bp và độ bao phủ 120x.

- **Tiền xử lý dữ liệu và lắp ráp *de novo* hệ gen**

Trình tự đọc thô được đánh giá và kiểm soát chất lượng bằng FastQC (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>) và Trimmomatic¹¹ (các thông số: ILLUMINACLIP:2:30:10 LEADING:3 TRAILING:3 SLIDINGWINDOW:10:30 MINLEN:100) để có được trình tự đọc tinh sạch. Sau khi tiền xử lý, FastQC được sử dụng lại để báo cáo các đặc điểm của các thư viện tiền xử lý và xác định tính hiệu quả của việc loại bỏ các trình tự chất lượng kém.

Sau khi lọc, các trình tự ngắn được lắp ráp bằng bộ sắp xếp hệ gen SPAdes và các contig với chiều dài hơn 300bp vẫn được giữ nguyên. Sau đó, những contig này được đưa vào 1 phân tích dựa trên nhiều bản thô để sắp xếp lại thông qua bộ scaffold MeDuSa¹² bằng cách sử dụng *A. baumannii* ATCC 17978 là hệ gen tham chiếu.

- **Chú giải hệ gen**

Phần mềm Prodigal (v2.6.2)¹³ là một hệ thống để xác định các gen trong các trình tự DNA của vi sinh vật, đặc biệt là vi khuẩn và virus, được sử dụng để dự đoán gen trong hệ gen thô của *A. baumannii* DMS06669, trong khi tRNAscan-SE¹⁴ và RNAmmer¹⁵ được sử dụng để lần lượt xác định tRNA và rRNA(5S, 16S và 23S).

Hơn nữa, hai máy chủ trực tuyến Tandem Repeat Finder (<http://tandem.bu.edu/trf/trf.html>)¹⁶ và CRISPR Finder (<http://crispr.u-psud.fr/Server/>)¹⁷ lần lượt được sử dụng để dự đoán các trình tự lặp đi lặp lại và phát hiện các CRISPR trong trình tự hệ gen.

Ngoài ra, các trình tự hệ gen được so sánh với cơ sở dữ liệu các trình tự chèn (IS) để xác định máy chủ IS Finder (<https://www-is.biotoul.fr/>).

Để phân loại chức năng của các gen đã dự đoán, BLASTp⁹ được sắp xếp để các axit amin của các gen đã dự đoán so với các dữ liệu COG¹⁸ với giá trị mong đợi < 10e⁻³ bằng cách dùng máy chủ CDD-batch¹⁹ (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>). Các trình tự axit amin được giống với thông số mặc định và việc mô tả chất lượng tốt nhất (với tỷ lệ % chiều dài giống cao nhất và tương ứng tương đồng với nhau) được dùng để chú thích các gen đã dự đoán. Tất cả các gen đã chú giải sau đó được phân loại dựa trên các lớp COG của chúng.

Để tìm kiếm các gen kháng thuốc kháng sinh, các trình tự gen đã dự đoán của DMS06669 được tìm kiếm trên cơ sở dữ liệu ResFinder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>) (v 2.1) bằng cách sử dụng ngưỡng tương tự như khuyến cáo trong trang web ResFinder.²⁰ Sau đó, cây phát sinh loài được xây dựng bằng cách dùng gói PHYMLIP (v 3.695)²² với thuật toán bootstrap được thiết kế là 500 và cây phát sinh loài được hình ảnh hóa bằng phần mềm FigTree (v 1.4.3) (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Sự đề kháng kháng sinh của *Acinetobacter baumannii*

Đặc điểm nhạy cảm kháng sinh đối với chủng DMS06669 được thể hiện trong Bảng 3. Kết quả này cho thấy chủng DMS06669 đã kháng đối với hầu hết các kháng sinh thử nghiệm, ngoại trừ colistin và tigecycline. Trong khi đó, chủng DMS06670 cũng kháng với hầu hết các kháng sinh thử nghiệm và còn nhạy cảm với colistin, tigecycline và amikacin.

Lắp ráp và chú giải trình tự hệ gen

Bộ dữ liệu đọc được làm sạch và đã ghép cặp được sử dụng để lắp ráp *de novo* hệ gen bằng cách dùng bộ lắp ráp hệ gen SPAdes và sắp xếp lại bằng Medusa, kết quả của chủng DMS06669 và DMS06670 lần lượt cho 24 và 16 scaffold, với tổng chiều dài của hệ gen là 4.369.281 và

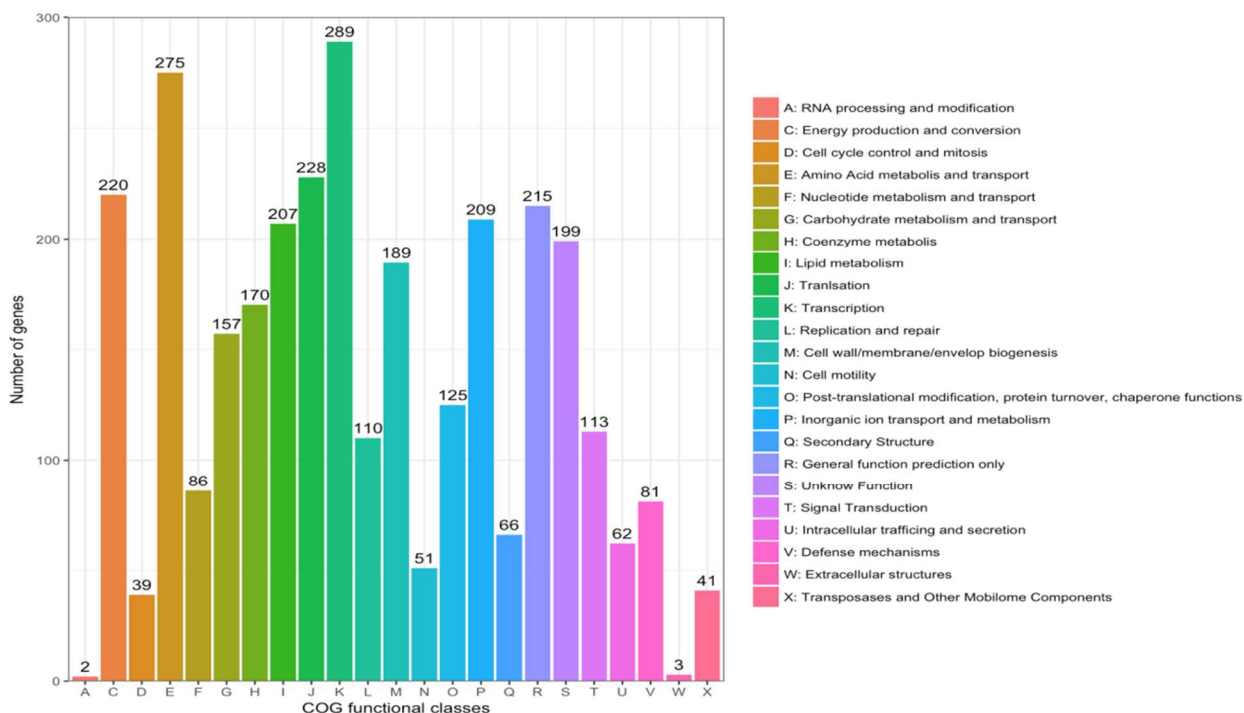
Bảng 3. Thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh với *A. baumannii* DMS06669 và DMS06670

Tên kháng sinh	MIC (µg/ml) chủng DMS06669	MIC (µg/ml) chủng DMS06670
Colistin	1	0,5
Tigecycline	1	4
Ciprofloxacin	4	2
Levofloxacin	4	4
Ceftriaxone	8	32
Bactrim	8/76	8/152
Imipenem	16	16
Meropenem	16	16
Gentamicin	16	8
Cefazolin	16	8
Ampicillin/Sulbactam	16/32	16/32
Ceftazidime	32	32
Cefepime	32	16
Cefoxitin	32	32
Aztreonam	32	16
Amikacin	64	8
Piperacillin/Tazobactam	128/8	64/4
Ticarillin/Clavulanic acid	128/4	64/2

Bảng 4. Kết quả lắp ráp và chú giải bộ gen của *Acinetobacter baumannii* DMS06669

Đặc điểm	Chủng DMS06669	Chủng DMS06670
Pair-end raw reads	4.750.865	4.998.333
Pair-end clean reads (Tỷ lệ % còn lại)	3768594 (79,32%)	3.964.392 (79,31%)
Tổng chiều dài của hệ gen thô (bp)	4.369.281	3.860.520
Số lượng scaffold	24	16
Chiều dài của scaffold (N50)	4.207.939	3.815.999
Hàm lượng GC (%)	38,91	38.94
Số lượng trình tự mã hóa	4.101	3.643
Số lượng tRNAs	63	65
Số lượng rRNAs	3	3
Số lượng CRISPR	2	3
Họ protein gây bệnh	632	622

3.860.520bp; N50 là 4.207.939 và 3.815.999bp và hàm lượng GC là 38,91 và 38.94%. Từ phân tích chú giải hệ gen, đã phát hiện được 4.101 và 3.643 trình tự mã hóa, 63 và 65 trình tự tRNA, 3 trình tự rRNA mỗi chủng và 2 và 3 CRISPR (Bảng 4).



Hình 2. Phân loại chức năng gen trên cơ sở dữ liệu COG

Chú giải chức năng của trình tự hệ gen *Acinetobacter baumannii*

Chức năng của trình tự hệ gen *Acinetobacter baumannii* DMS06669 chủ yếu lần lượt từ là nhóm phiên mã, trao đổi và vận chuyển axit amin, chuyển hóa và sản xuất năng lượng, dịch mã, các con đường trao đổi chất và vận chuyển ion bên trong tế bào. Các nhóm chức năng còn lại có số lượng gen tương đối bằng nhau. Riêng hai nhóm: Chính sửa và xử lý RNA; Cấu trúc ngoại bào có rất ít gen tương đồng.

Phân tích cây phân loài và các hệ gen so sánh

Dựa trên các hệ gen từ các chủng *Acinetobacter baumannii* đã được công bố trên dữ liệu ANI (Average Nucleotide Identity), tiến hành phân tích cây phân loài dựa trên 16S-rRNA để xác định quan hệ di truyền của các chủng. Hình 3 cho thấy phát sinh loài của chủng DMS06669 liên quan gần trong 1 nhóm 6 chủng ATCC_17978, D1279779, ZW85-1; ab031 và SDF. Trong khi đó, chủng DMS06670 cùng nhánh với LAC-4 và BJAB0715.

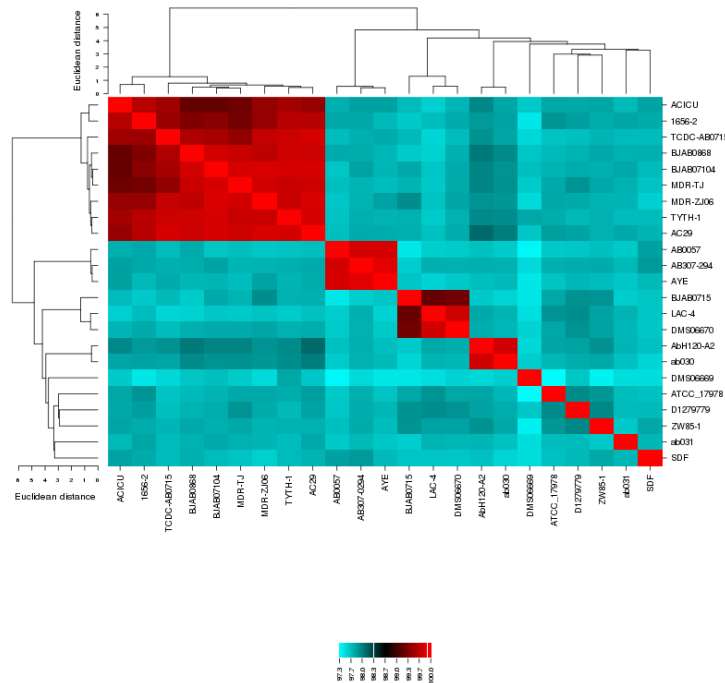
Để hiểu rõ hơn mối liên quan giữa chủng DMS06669 và các chủng *A. baumannii* toàn cầu khác, một cây phân loài hệ gen dựa trên thuật toán neighbor-joining, được tiến hành dựa

trên hệ gen của *Acinetobacter baumannii* DMS06669 và 21 hệ gen khác có giá trị từ dữ liệu KEGG dùng Progressive Mauve. Kết quả từ hình 4 cho thấy DMS0669 thuộc chủng quốc tế II (International Clone II, IC II).

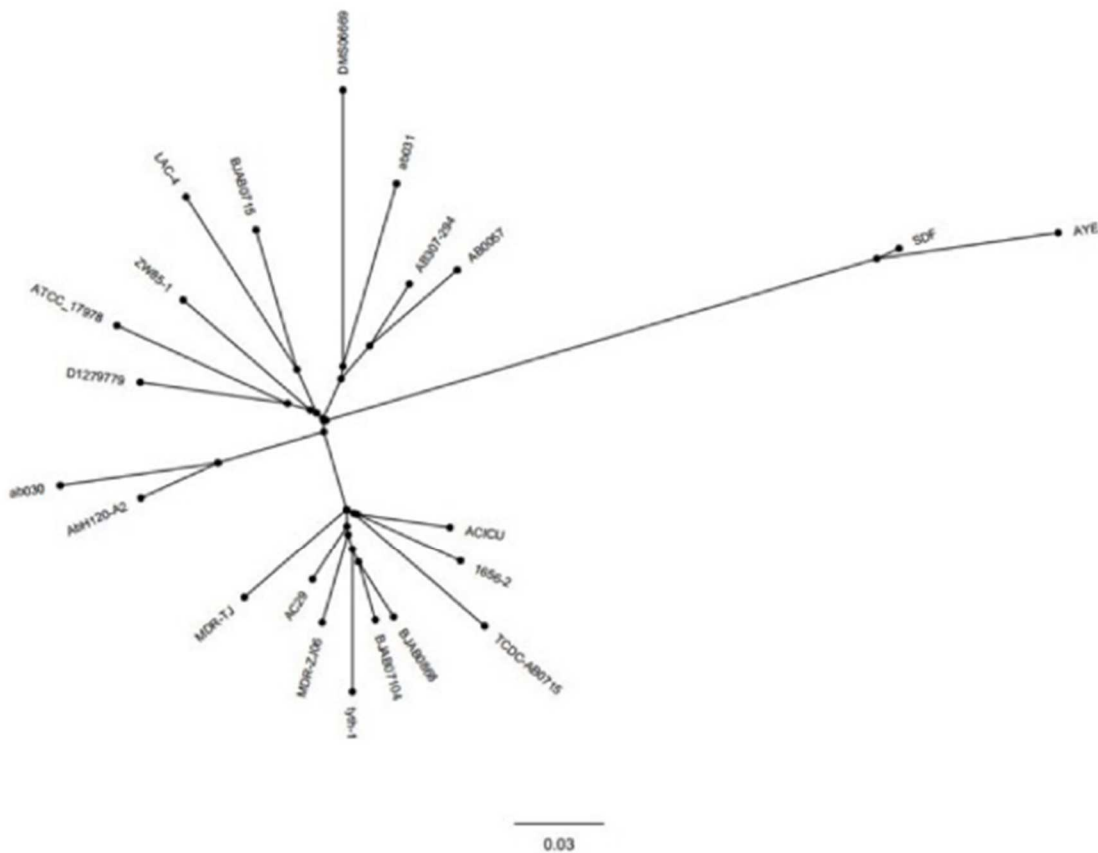
Xác định các gen đề kháng với kháng sinh

Để xác định các gen liên quan tới sự đề kháng với kháng sinh của *A. baumannii* DMS06669, các trình tự mã hóa được nhập vào cả dữ liệu ResFinder.²⁰

Bảng 5 liệt kê các gen có liên quan đến sự đề kháng của chủng *A. baumannii* DMS06669 đối với các aminoglycoside, betalactam, macrolide, lincosamide streptogramin B, phenicol, rifampicin, sulphonamide, tetracycline, trimethoprim. Chủng *A. baumannii* DMS06669 chiếm số lượng lớp kháng kháng sinh cao nhất trong tổng số 22 chủng *A. baumannii* từ việc tìm kiếm trong ResFinder (8/9 lớp kháng sinh, ngoại trừ nhóm fluoroquinolon) (Hình 5), tiếp theo là các chủng AYE, BJAB0868, MDR-ZJ06, MDR-TJ và BJAB07104, tất cả đều đã được báo cáo là các chủng đa kháng thuốc. Việc thiếu sự đề kháng nhóm kháng sinh fluoroquinolon trong chủng DMS06669 phù hợp với phân tích MIC (Bảng 3), khi giá trị MIC của ciprofloxacin, levofloxacin đều ở mức trung gian là 4 µg/ml.



Hình 3. Phân tích cây phân loài 16S rRNA cho thấy mối liên hệ tiến hóa giữa *A. baumannii* DMS06669, DMS06670 và các chủng *A. baumannii* khác.



Hình 4. Cây phân loài của các hệ gen của *A. baumannii* DMS06669 và 21 hệ gen *A. baumannii* khác.

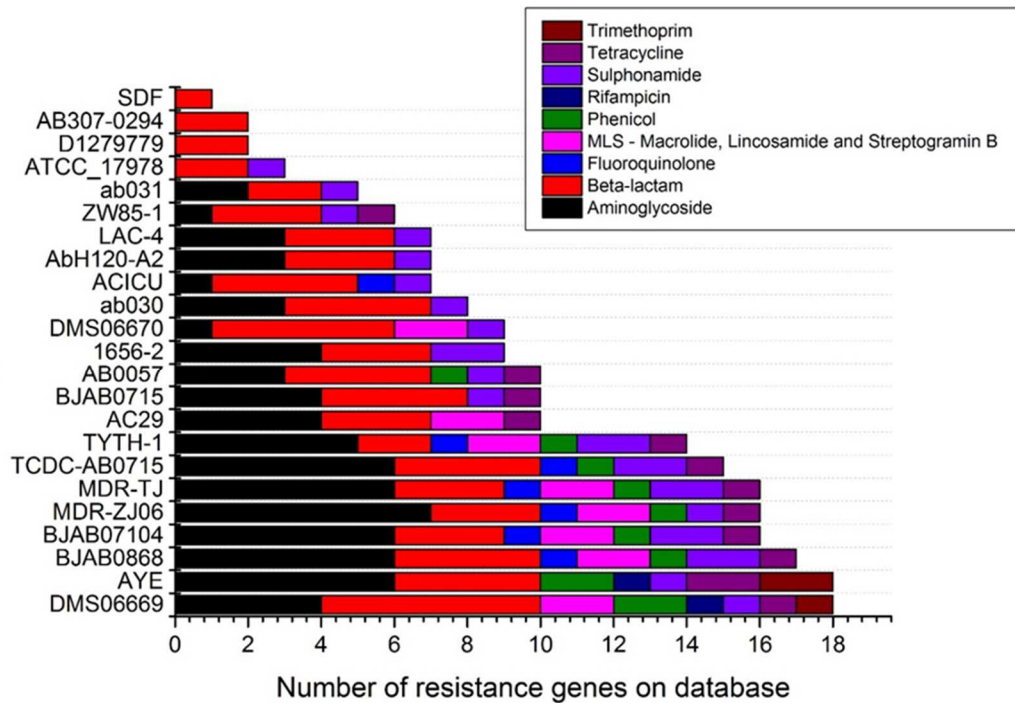
Bảng 5. Ô gen đề kháng kháng sinh được xác định bằng ResFinder

Gen đã dự đoán	Gen kháng	Lớp kháng sinh bị kháng	Tương đồng (%)	Chiều dài HSP/Query
	<i>aadA16</i>	Aminoglycoside	99,65	846 / 846
DMS06669_scf_2_1	<i>aadB</i>	Aminoglycoside	100	534 / 534
DMS06669_scf_23_3	<i>aadA1</i>	Aminoglycoside	99,87	792 / 792
DMS06669_scf_22_2	<i>rmtB</i>	Aminoglycoside	100	756 / 756
DMS06669_scf_2_2	<i>bla_{VEB-7}</i>	Beta-lactam	99,89	900 / 900
DMS06669_scf_23_2	<i>bla_{OXA-10}</i>	Beta-lactam	100	801 / 801
DMS06669_scf_18_1	<i>bla_{OXA-58}</i>	Beta-lactam	100	843 / 843
DMS06669_scf_1_2828	<i>bla_{ADC-25}</i>	Beta-lactam	96,35	1152 / 1152
DMS06669_scf_11_9	<i>bla_{NDM-1}</i>	Beta-lactam	100	813 / 813
DMS06669_scf_1_1731	<i>bla_{OXA-64}</i>	Beta-lactam	100	825 / 825
DMS06669_scf_23_1	<i>cmIA1</i>	Phenicol	99,13	1260 / 1260
DMS06669_scf_21_2	<i>floR</i>	Phenicol	98,35	1214 / 1215
DMS06669_scf_5_1	<i>sul1</i>	Sulphonamide	100	840 / 840
DMS06669_scf_8_3	<i>tet(39)</i>	Tetracycline	99,91	1122 / 1122
DMS06669_scf_13_10	<i>mph(E)</i>	Macrolide	100	885 / 885
DMS06669_scf_13_11	<i>msr(E)</i>	Macrolide, Lincosamide và Streptogramin B	100	1476 / 1476
DMS06669_scf_16_1	ARR-3	Rifampicin	100	453 / 453
DMS06669_scf_4_2	<i>dfrA27</i>	Trimethoprim	100	474 / 474
Gen đã dự đoán	Gen kháng	Lớp kháng sinh bị kháng	Tương đồng (%)	Chiều dài HSP/Query
DMS06670_ctg_47	<i>aac(3)-Ild</i>	Aminoglycoside	99,88	861 / 861
DMS06670_ctg_45	<i>bla_{CARB-2}</i>	Beta-lactam Alternate name; PSE-1, blaP1b	100,00	915 / 915
DMS06670_ctg_54	<i>bla_{OXA-58}</i>	Beta-lactam	100,00	843 / 843
DMS06670_ctg_1	<i>bla_{ADC-25}</i>	Beta-lactam	96,53	1152 / 1152
DMS06670_ctg_8	<i>bla_{OXA-68}</i>	Beta-lactam	100,00	825 / 825
DMS06670_ctg_41	<i>bla_{NDM-1}</i>	Beta-lactam	100,00	813 / 813
DMS06670_ctg_25	<i>mph(E)</i>	Macrolide	100,00	885 / 885
DMS06670_ctg_25	<i>msr(E)</i>	Macrolide, Lincosamide và Streptogramin B	100,00	1476 / 1476
DMS06670_ctg_45	<i>sul1</i>	Sulphonamide	100,00	927

Đề hiểu nhiều hơn về nhóm aminoglycoside, có hai gen (*aadB*²⁵ và *rmtB*²⁶ liên quan đến tính kháng gentamicin và amikacin trong chủng.

A. baumannii DMS06669. Các giá trị MIC của gentamicin và amikacin cũng thực sự cao với lần lượt là 16 và 64 µg/ml (Bảng 3). Đặc biệt, *rmtB* là gen kháng aminoglycosid mà trước đây chưa từng được báo cáo trong *A. baumannii*. Ngoài ra, đã khảo sát *aadA1*²⁷ và *aadA16* (chưa bao giờ được báo cáo trong *A.*

baumanni trước đó)²⁸, liên quan đến sự kháng streptomycin và spectinomycin Trong đề kháng kháng sinh nhóm MLS (Macrolide, Lincosamide và Streptogramin B), có hai gen *mphE*²⁹ và *msrE*,³⁰ liên quan đến sự đề kháng với erythromycin (macrolisade) và streptogramin. Các kết quả này cũng được báo cáo ở các chủng đa kháng thuốc khác như BJAB0868, BJAB07104, TYTH-1, MDR-ZJ06, AC29, MDR-TJ.



Hình 5. Các nhóm đề kháng kháng sinh của *A. baumannii* DMS06669, DMS06670 và 21 chủng *A. baumannii* (được tải từ cơ sở dữ liệu KEGG) bằng ResFinder.

Ở các nhóm phenicol, Rifampicin và sulphonamide, bên cạnh một số gen tìm thấy trong *A. baumannii* như *cmlA1* liên quan đến sự đề kháng chloramphenicol³¹ và *sul1* liên quan đến kháng sulfamethoxazole,³² xác định hai gen chỉ xuất hiện trong chủng DMS06669 như floR chloramphenicol và kháng phenicol³³ và rifampin (rifampicin), rifaximin, rifabutin, kháng rifapentine nhóm.³⁴Có hai gen dự đoán của DMS06669 tương tự như *ter*³⁹ và *dfrA27* thuộc các lớp tetracycline và trimethoprim. Những gen này chưa bao giờ được báo cáo trong *A. baumannii* trước đây. Gen *ter*³⁹ được báo cáo là sự đề kháng với tetracycline có cấu trúc tương tự với tigecycline nhưng hoạt động cao hơn 5 lần. Tuy nhiên, theo phân tích của MIC (Bảng 3), DMS06669 kháng tigecycline (1µg/ml) có nghĩa là *ter*³⁹ không liên quan đến kháng tigecycline. Dữ liệu cũng khẳng định rằng gen *dfrA27* có liên quan đến kháng trimethoprim và phức hợp của các gen *dfrA27* và *aadA16* đã được tìm thấy trong chủng *E. coli* 1387 đa kháng thuốc.²⁸ Phức hợp này được xác định có trong chủng DMS06669.

Có 8 gen được xếp vào nhóm đề kháng với

Bảng 6. Các kết quả từ PathogenFinder của hệ gen *A. baumannii* DMS06669 và DMS06670

Các đặc điểm	Giá trị ở DMS06669	Giá trị ở DMS06670
Xác suất trở thành tác nhân gây bệnh ở người (%)	85.8	85.3
Độ bao phủ protein đầu vào (%)	15.48	17.11
Các họ protein gây bệnh có tương đồng	632	622
Các họ protein gây bệnh không tương đồng	1	0
Số lượng các trình tự	4,090	3,636
Tổng chiều dài các trình tự (bp)	1,280,033	1,128,874
Chiều dài trình tự dài nhất (bp)	4,877	3,452
Chiều dài trình tự ngắn nhất (bp)	30	31
Trung bình chiều dài của các trình tự (bp)	312.0	310.0

kháng sinh beta-lactamase. Gen *bla_{VEB7}* có liên quan đến kháng cephalosporin (cefepime, cefoxitin, cefazolin, ceftriaxone) và kháng thuốc aztreonam.³⁵ Điều này phù hợp với phân tích MIC (Bảng 3). Năm gen *bla_{OXA-10}*³⁶ *bla_{OXA-58}*³⁷,

Bảng 7. Các vùng tiền thể thực khuẩn ở *A. baumannii* DMS06669 và DMS06670

Chủng	Vùng	Chiều dài vùng (kb)	Tính toàn vẹn	CDS	Chức năng đặc trưng
DMS06669	1	26.7	Nguyên vẹn	44	lysine, transposase, terminase, portal, head, capsid
	2	25.3	Không nguyên vẹn	10	integrase
	3	37.3	Nguyên vẹn	55	terminase, plate, tail, head, virion, portal
	4	45.2	Nguyên vẹn	64	portal, tail, recombinase, terminase, lysine, head
DMS06670	1	21	Không nguyên vẹn	22	integrase, tail
	2	4	Không nguyên vẹn	30	integrase, capsid

*bla_{OXA-64}*³⁸ và *bla_{NDM-1}*³⁹ được coi là các gen kháng thuốc của nhóm kháng sinh carbapenems (meropenem và imipenem). Trong số đó, *bla_{OXA-64}* chưa bao giờ công bố trước đây trong các chủng *A. baumannii*. Điều lo ngại hơn, cả gen *bla_{NDM-1}* và *bla_{OXA-58}* tìm thấy trong DMS06669 chưa bao giờ được báo cáo trong cùng một chủng trước đó.

Xác định các gen liên quan đến độc lực của vi khuẩn

Bằng cách sử dụng PathogeneFinder, dự đoán rằng xác suất để chủng *Acinetobacter baumannii* DMS06669 và DMS06670 là một tác nhân gây bệnh ở người tương ứng là 85,8% và 85,3%. Kết quả chi tiết được liệt kê trong Bảng 6. Tổng cộng có 632 và 622 họ gây bệnh tương đồng với các trình tự hệ gen hoàn chỉnh của chủng *Acinetobacter baumannii* DMS06669 và DMS06670.

Xác định các vùng tiền thể thực khuẩn ở *Acinetobacter baumannii*

Các vùng tiền thể thực khuẩn được xác định bằng PHAST. Tiến hành phân tích các vùng tiền thể thực khuẩn trong hệ gen của 2 chủng *A. baumannii* DMS06669 và DMS06670 và xác định được cả 2 chủng có chứa 1 số vùng tiền thể thực khuẩn (prophage) (Bảng 7). Các trình tự giống phage (phage-like sequences) được giả thuyết là giúp tăng cường khả năng bám dính của tế bào vi khuẩn vào tế bào chủ (người) và có khả năng tích lũy đề kháng với kháng sinh. Điều này giúp vi khuẩn sống sót trong các môi trường mới và trở thành các tác nhân gây bệnh.

KẾT LUẬN

Có 4,101 trình tự mã hóa được dự đoán và chú thích với các cơ sở dữ liệu trực tuyến khác

nhau như tRNAscan-SE, RNAMmer, Tandem Repeat Finder, CRISPR Finder, IS Finder, COG và ResFinder. Mười tám gen dự đoán (trong đó có 8 gen mới chưa từng được báo cáo trước đây ở *A. baumannii*) có liên quan đến sự đề kháng của 8 nhóm kháng sinh. Có hai gen kháng thuốc kháng sinh được tìm thấy trong dòng DMS06669 và chưa bao giờ được báo cáo ở *A. baumannii* trước đây. Phân tích hệ gen này cung cấp các thông tin gen độc lực, sinh bệnh học và đề kháng thuốc hiện có ở *A. baumannii* và hỗ trợ cho các nghiên cứu trong tương lai về cơ chế phân tử đề kháng kháng sinh và sinh bệnh học ở loài vi khuẩn nguy hiểm này.

TAI LIỆU THAM KHẢO

1. Peleg, A.Y., H. Seifert, and D.L. Paterson, *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 2008. **21**(3): p. 538-582.
2. Poirel, L. and P. Nordmann, *Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology*. *Clinical Microbiology and Infection*, 2006. **12**(9): p. 826-836.
3. Dijkshoorn, L., A. Nemeč, and H. Seifert, *An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*, 2007. **5**(12): p. 939-951.
4. Poirel, L., et al., *Outbreak of Extended-Spectrum β-Lactamase VEB-1-Producing Isolates of Acinetobacter baumannii in a French Hospital*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003. **41**(8): p. 3542-3547.
5. Lockhart, S.R., et al., *Antimicrobial Resistance among Gram-Negative Bacilli Causing Infections in Intensive Care Unit Patients in the United States between 1993 and 2004*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007. **45**(10): p. 3352-3359.
6. Falagas, M. and E. Karveli, *The changing global epidemiology of Acinetobacter baumannii infections: a development with major public health implications*. *Clinical microbiology and infection*, 2007. **13**(2): p. 117-119.
7. Zarilli, R., et al., *Global evolution of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clonal lineages*. *International journal of antimicrobial agents*, 2013. **41**(1): p. 11-19.
8. Sunenshine, R.H., et al., *Multidrug-resistant Acinetobacter Infection Mortality Rate and Length of Hospitalization*. *Emerging Infectious Diseases*, 2007. **13**(1): p. 97-103.
9. Metzker, M.L., *Sequencing technologies—the next generation*. *Nature reviews genetics*, 2010. **11**(1): p. 31-46.

10. Kinzler, K.W., et al., *Identification of an Amplified, Highly Expressed Gene in a Human Glioma*. Science, 1987. **236**.
11. Bolger, A.M., M. Lohse, and B. Usadel, *Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data*. Bioinformatics, 2014: p. btu170.
12. Bosi, E., et al., *MeDuSa: a multi-draft based scaffold*. Bioinformatics, 2015: p. btv171.
13. Hyatt, D., et al., *Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification*. BMC Bioinformatics, 2010. **11**: p. 119-119.
14. Lowe, T.M. and S.R. Eddy, *tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence*. Nucleic acids research, 1997. **25**(5): p. 955-964.
15. Lagesen, K., et al., *RNAMmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes*. Nucleic acids research, 2007. **35**(9): p. 3100-3108.
16. Benson, G., *Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences*. Nucleic Acids Research, 1999. **27**(2): p. 573-580.
17. Grissa, I., G. Vergnaud, and C. Pourcel, *CRISPRFinder: a web tool to identify clustered regularly interspaced short palindromic repeats*. Nucleic acids research, 2007. **35**(suppl 2): p. W52-W57.
18. Tatusov, R.L., et al., *The COG database: an updated version includes eukaryotes*. BMC bioinformatics, 2003. **4**(1): p. 41.
19. Marchler-Bauer, A., et al., *CDD: a Conserved Domain Database for the functional annotation of proteins*. Nucleic acids research, 2011. **39**(suppl 1): p. D225-D229.
20. Wang, H., et al., *Identification of antibiotic resistance genes in the multidrug-resistant Acinetobacter baumannii strain, MDR-SHH02, using whole-genome sequencing*. International journal of molecular medicine, 2016.
21. Kanehisa, M. and S. Goto, *KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes*. Nucleic acids research, 2000. **28**(1): p. 27-30.
22. Felsenstein, J., *{PHYMLIP}(Phylogeny Inference Package) Version 3.6 a3*. 2002.
23. Gao, F., et al., *Genome sequence of Acinetobacter baumannii MDR-TJ*. Journal of bacteriology, 2011. **193**(9): p. 2365-2366.
24. Fang, Y., et al., *Complete genome sequence of Acinetobacter baumannii XH386 (ST208), a multi-drug resistant bacteria isolated from pediatric hospital in China*. Genomics data, 2016. **7**: p. 269-274.
25. Cameron, F.H., et al., *Nucleotide sequence of the AAD (2) aminoglycoside adenyltransferase determinant aadB. Evolutionary relationship of this region with those surrounding aadA in R538-1 and dhfrII in R388*. Nucleic acids research, 1986. **14**(21): p. 8625-8635.
26. Zhou, Y., et al., *Distribution of 16S rRNA methylases among different species of Gram-negative bacilli with high-level resistance to aminoglycosides*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2010. **29**(11): p. 1349-1353.
27. Hollingshead, S. and D. Vapnek, *Nucleotide sequence analysis of a gene encoding a streptomycin/spectinomycin adenyltransferase*. Plasmid, 1985. **13**(1): p. 17-30.
28. Wei, Q., et al., *dfrA27, a new integron-associated trimethoprim resistance gene from Escherichia coli*. Journal of antimicrobial chemotherapy, 2009. **63**(2): p. 405-406.
29. Bhullar, K., et al., *Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome*. PloS one, 2012. **7**(4): p. e34953.
30. Bonnin, R.A., et al., *Comparative genomics of IncL/M-type plasmids: evolution by acquisition of resistance genes and insertion sequences*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2013. **57**(1): p. 674-676.
31. Bissonnette, L., et al., *Characterization of the nonenzymatic chloramphenicol resistance (cmlA) gene of the In4 integron of Tn1696: similarity of the product to transmembrane transport proteins*. Journal of bacteriology, 1991. **173**(14): p. 4493-4502.
32. Sköld, O., *Resistance to trimethoprim and sulfonamides*. Veterinary research, 2001. **32**(3-4): p. 261-273.
33. Arcangioli, M.-A., et al., *A new chloramphenicol and florfenicol resistance gene flanked by two integron structures in Salmonella typhimurium DT104*. FEMS Microbiology Letters, 1999. **174**(2): p. 327-332.
34. Chowdhury, G., et al., *Transferable plasmid-mediated quinolone resistance in association with extended-spectrum β -lactamases and fluoroquinolone-acetylating aminoglycoside-6-N-acetyltransferase in clinical isolates of Vibrio fluvialis*. International journal of antimicrobial agents, 2011. **38**(2): p. 169-173.
35. Poirel, L., et al., *Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel class A extended-spectrum β -lactamase encoded by an Escherichia coli integron gene*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1999. **43**(3): p. 573-581.
36. Paetzel, M., et al., *Crystal structure of the class D β -lactamase OXA-10*. Nature Structural & Molecular Biology, 2000. **7**(10): p. 918-925.
37. Poirel, L., et al., *OXA-58, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2005. **49**(1): p. 202-208.
38. Brown, S. and S. Amyes, *The sequences of seven class D β -lactamases isolated from carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii from four continents*. Clinical microbiology and infection, 2005. **11**(4): p. 326-329.
39. Yong, D., et al., *Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in Klebsiella pneumoniae sequence type 14 from India*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2009. **53**(12): p. 5046-5054.

Người phản biện: PGS TS Lê Tiến Dũng

email: ledungcuc@yahoo.com

Ngày nhận bài: 02/01/2018

Ngày phản biện: 13/03/2018

Ngày đăng báo: 22/03/2018