

ĐẶC ĐIỂM GEN MÃ HOÁ CARBAPENEMASE CỦA CÁC CHỦNG *ACINETOBACTER BAUMANNII* KHÁNG THUỐC CARBAPENEM

Lê Nữ Xuân Thanh¹, Lê Thị Ánh Ngọc², Nguyễn Thị Nam Liên³,
Ngô Viết Quỳnh Trâm¹, Antonella Santona⁴, Pietro Cappuccinelli⁴

(1) Bộ môn Vi sinh, Trường Đại học Y Dược Huế

(2) Bộ môn Sinh hoá, Trường Đại học Y Dược Huế

(3) Khoa Vi Sinh, Bệnh viện Trung ương Huế

(4) Khoa Vi Sinh, Đại học Sassari, Ý

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Ngày nay các chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng carbapenem đang gia tăng ở nhiều nơi trên thế giới kể cả Việt Nam, chúng được cho là một trong những loại vi khuẩn đề kháng khó kiểm soát và điều trị nhất. Kháng thuốc carbapenem ở *A. baumannii* thường gặp nhất do việc sản xuất các men carbapenemases Oxacillinase (OXA) và metallo- β -lactamases (MBLs). **Mục tiêu:** Xác định tỷ lệ kháng carbapenem và phát hiện các gen mã hóa carbapenemase của các chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng carbapenem. **Phương pháp nghiên cứu:** nghiên cứu mô tả cắt ngang. **Đối tượng nghiên cứu:** Những chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng carbapenem trong tổng số 90 chủng vi khuẩn nhóm *A. baumannii* (ACB) được phân lập ở Bệnh viện Trung ương Huế (TƯH) và Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế (ĐHYDH). Độ nhạy cảm với kháng sinh của các chủng *A. baumannii* được thực hiện bằng phương pháp MicroScan. Các kỹ thuật PCR đa mồi được thực hiện để phát hiện các gen mã hóa carbapenemase. **Kết quả:** Tỷ lệ *A. baumannii* kháng carbapenem là 88,5% và 87,5% lần lượt ở TƯH và ĐHYDH. Tất cả các gen *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} cũng như sự xuất hiện đồng thời của hai gen (*bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}) hoặc ba gen ((*bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-58}) hoặc (*bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-58})) đều đã được phát hiện ở các chủng *A. baumannii* kháng carbapenem. **Kết luận:** Tỷ lệ kháng carbapenem ở *A. baumannii* là rất cao. Sự bùng nổ của kháng carbapenem ở *A. baumannii* có liên quan đến việc sản xuất các men carbapenemases Oxacillinase (OXA) và metallo- β -lactamases (MBLs).

Từ khóa: *Acinetobacter baumannii*; kháng carbapenem; carbapenemase.

Abstract

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF GENES ENCODING ACQUIRED CARBAPENEMASE OF CARBAPENEM-RESISTANT *ACINETOBACTER BAUMANNII* ISOLATES

Le Nu Xuan Thanh¹, Le Thi Anh Ngoc², Nguyen Thi Nam Lien³,

Ngo Viet Quynh Tram¹, Antonella Santona⁴, Pietro Cappuccinelli⁴

(1) Department of Microbiology, Hue University of Medicine and Pharmacy

(2) Department of Biochemistry, Hue University of Medicine and Pharmacy

(3) Department of Microbiology, Hue Central Hospital

(4) Department of Microbiology, Sassari University, Italy

Background: Today carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates are rising in several parts of the world including Vietnam, they are recognized to be among the most difficult resistant bacteria to treat and control. Carbapenem resistance is most commonly caused by the production of OXA-type carbapenemases and metallo- β -lactamases (MBLs). **Objectives:** Determine the rate and detect the genes encoding acquired carbapenemase of carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates. **Materials and methods:** Study design is cross-sectional descriptive study. Carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates in 90 *A. baumannii* (ACB) complex isolates were collected from Hue Central Hospital (HCH) and Hue University Hospital (HUP). Susceptibility to carbapenem of *A. baumannii* strains were performed by MicroScan method. Multiplex PCRs were performed to detect the genes encoding acquired carbapenemase. **Results:** Carbapenem resistance rates in *A. baumannii* were 88.5% and 87.5% in HCH and HHUMP, respectively. All of genes *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23},

*bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} as well as coexistence of two genes (*bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}) or three genes ((*bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-58}) or (*bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-58})) were detected in carbapenem resistant *A. baumannii* isolates. **Conclusions:** Carbapenem resistance rate in *A. baumannii* was relatively high. The emergence of carbapenem resistance in *A. baumannii* is associated with the production of OXA-type carbapenemases and metallo-β-lactamases (MBLs).

Key words: *Acinetobacter baumannii*; carbapenem resistance; carbapenemase.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Acinetobacter baumannii là một tác nhân gây nhiễm trùng bệnh viện nghiêm trọng và đang là vấn đề thời sự của ngành y tế. Việc điều trị nhiễm trùng do *A. baumannii* thường phức tạp do các kiểu hình đa kháng thuốc, bao gồm kháng β-lactam phổ rộng, aminoglycosides và fluoroquinolones [12]. Carbapenems đã được sử dụng rộng rãi để điều trị các bệnh nhiễm trùng nghiêm trọng liên quan đến *A. baumannii* đa đề kháng nhưng xu hướng tăng sức đề kháng đối với những thuốc này đã được ghi nhận trên toàn thế giới trong những năm vừa qua. Một số cơ chế về sự đề kháng carbapenem đối với *A. baumannii* bao gồm: (i) hình thành các gen kháng thuốc β-lactamases, (ii) thay đổi các protein gắn penicillin của vi khuẩn, (iii) giảm thẩm thấu màng ngoài do thay đổi cấu trúc hoặc số lượng protein porin (protein lỗ xuyên màng), và (iv) tăng hoạt động của các bơm đẩy kháng sinh ra khỏi vi khuẩn [6]. Kháng thuốc carbapenem ở *A. baumannii* chủ yếu liên quan đến sản xuất β-lactamase, thường gặp nhất do việc sản xuất các men carbapenemases Oxacillinase (OXA) và metallo-β-lactamases (MBLs) [1]. Trong số các gen kháng thuốc OXA, gen *bla*_{OXA-51} là gen kháng thuốc nội tại tự nhiên và gắn liền với chủng *A. baumannii* [4]. Do đó những chủng vi khuẩn nhóm *A. baumannii* (ACB) (bao gồm: *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii* và *A. calcoaceticus*) được phân lập bằng phương pháp nuôi cấy thông thường có thể định danh là *A. baumannii* nhờ vào sự hiện diện của gen *bla*_{OXA-51}.

Và để tìm hiểu rõ hơn về cơ chế đề kháng carbapenem của vi khuẩn *A. baumannii*, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài này với mục tiêu:

- Xác định tỷ lệ các chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng thuốc carbapenem.

- Phát hiện các gen mã hoá carbapenemase ở các chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng thuốc carbapenem.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Mục tiêu 1: 90 chủng vi khuẩn nhóm ACB được thu thập từ tháng 3-2016 đến tháng 9-2016,

73 chủng từ bệnh viện Trung ương Huế (TƯH) và 17 chủng từ bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế (ĐHYDH). Những mẫu này đã được phân lập, định danh là vi khuẩn nhóm ACB bằng bộ định danh vi khuẩn API 20E (Biomerieux).

- Mục tiêu 2: Các chủng *A. baumannii* (được xác định bằng gen *bla*_{OXA-51}) đề kháng carbapenem.

2.3. Phương pháp nghiên cứu:

- Xác định mức độ kháng kháng sinh của các chủng *A. baumannii* bằng hệ thống tự động MicroScan (MicroScan Dried Gram Negative, Beckman Coulter Inc.). Thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh này được xem là phương pháp nồng độ ức chế tối thiểu, kết quả dựa theo tiêu chuẩn CLSI. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) được xác định bằng cách quan sát nồng độ kháng khuẩn thấp nhất mà ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Hệ thống MicroScan cho phép biết tính nhạy cảm của vi khuẩn với nhiều kháng sinh, nghiên cứu này tập trung vào 2 kháng sinh là imipenem và meropenem.

- Phát hiện các gen mã hoá Oxacillinase thuộc lớp D carbapenemase: Phát hiện các gen *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-58} bằng kỹ thuật PCR đa môi. DNA khuôn cho phản ứng PCR được tách chiết trực tiếp từ khuẩn lạc vi khuẩn. Sử dụng bốn cặp mồi (Oxa-51-F/Oxa-51-R, Oxa-23-F/Oxa-23-R, Oxa-24-F/Oxa-24-R, Oxa-58-F/Oxa-58-R) và các sản phẩm PCR tương ứng là: 353 bp (OXA-51), 501 bp (OXA-23), 246 bp (OXA-24), 599 bp (OXA-58) [13]. Gen *bla*_{OXA-51} được xem là yếu tố để phân biệt *A. baumannii* với các loài *Acinetobacter* khác được tìm thấy [4].

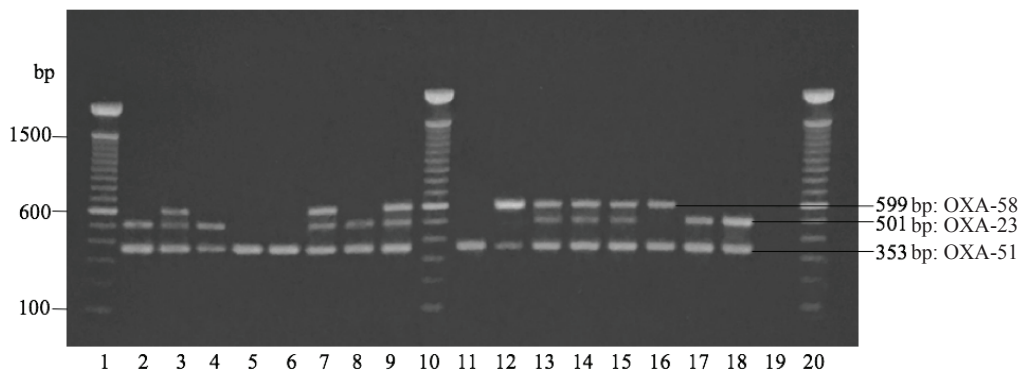
- Phát hiện các gen carbapenemase lớp B và lớp A: Các gen *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{SIM-1}, *bla*_{GIM-1} và *bla*_{SPM-1} thuộc carbapenemase lớp B được phát hiện bằng kỹ thuật PCR đa môi. Sử dụng năm cặp mồi (Imp-F/Imp-R, Vim-F/Vim-R, Sim-F/Sim-R, Gim-F/Gim-R, Spm-F/Spm-R) và các sản phẩm PCR tương ứng là: 188 bp (IMP), 390 bp (VIM), 570 bp (SIM-1), 477 bp (GIM-1), 271 bp (SPM-1) [2].

Gen *bla*_{NDM} thuộc carbapenemase lớp B và *bla*_{KPC} thuộc carbapenemase lớp A. Kỹ thuật PCR đa môi cũng được sử dụng để phát hiện hai gen này. Sử dụng hai cặp mồi (Ndm-F / Ndm-R và Kpc-F / Kpc-R) và sản phẩm PCR tương ứng là 621 bp (NDM), 798 bp (KPC) [8].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Sự phân bố các chủng vi khuẩn nhóm ACB ở hai bệnh viện

Thực hiện kỹ thuật PCR đa mồi phát hiện các gen *bla*_{OXA} mã hóa carbapenemase chúng tôi đã xác định được 77 chủng vi khuẩn *A. baumannii* (Hình 3.1)



Hình 3.1. Kết quả phát hiện các gen *bla*_{OXA} bằng PCR đa mồi

1, 10, 20: thang DNA chuẩn 100 bp;

2- 9, 11- 18: Kết quả PCR của các mẫu;

19: Chứng âm.

Bảng 3.1. Sự phân các chủng vi khuẩn nhóm ACB ở Bệnh viện Trung ương Huế và bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế

Vi khuẩn nhóm <i>A. baumannii</i> (ACB)	n	%	Bệnh viện Trung ương Huế		Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế		p
			n	%	n	%	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	77	85,6%	61	83,6	16	94,1	>0,05
Các <i>Acinetobacter</i> khác	13	14,4%	12	16,4	1	5,9	
Tổng	90	100	73	100	17	100	

A. baumannii được định danh đúng ở mức phân tử được phân bố ở bệnh viện Trung ương Huế và bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế lần lượt là 83,6% và 94,1%.

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự phân bố vi khuẩn *A. baumannii* ở hai bệnh viện này ($p > 0,05$). Ở cả hai bệnh viện, *A. baumannii* là loài vi khuẩn *Acinetobacter* chiếm tỉ lệ nhiều nhất (85,6%), các loài *Acinetobacter* khác chỉ 14,4% những loài này có thể *A. nosocomialis*, *A. pittii* hoặc *A. calcoaceticus*.

3.2. Tỷ lệ các chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng thuốc carbapenem:

Ở cả hai bệnh viện, tỉ lệ các chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng carbapenem (imipenem, meropenem) là 88,3% (68/77 chủng vi khuẩn). Trong đó, tỉ lệ này ở bệnh viện Trung ương là 88,5% (54/61 chủng vi khuẩn) và ở bệnh viện Trường Đại học Y Dược là 87,5% (14/16 chủng vi khuẩn). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự đề kháng carbapenem của các chủng *A. baumannii* ở hai bệnh viện trên ($p > 0,05$) (Bảng 3.2)

Bảng 3.2. Tỷ lệ các chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng carbapenem ở hai bệnh viện

	TƯH			ĐHYDH		p
	n	%		n	%	
CSAb	7	11,5		2	12,5	>0,05
CRAb	54	88,5		14	87,5	
Total	61	100		16	100	

CSAb: *A. baumannii* nhạy cảm carbapenem,
CRAb: *A. baumannii* đề kháng carbapenem.

Những chủng *A. baumannii* đa kháng thuốc ngày càng gia tăng trong các bệnh nhiễm trùng liên

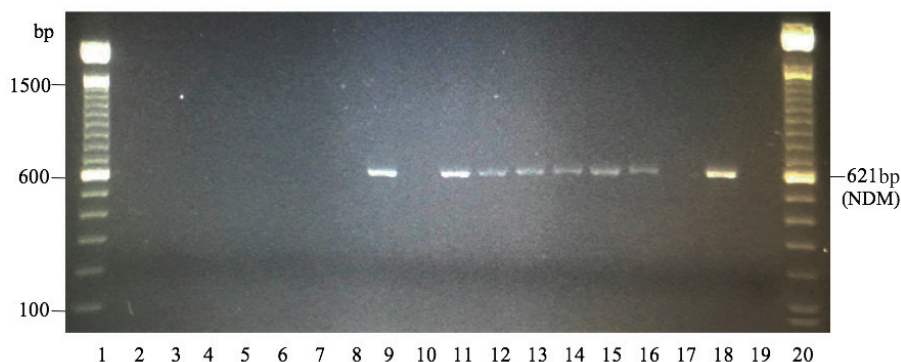
quan đến chăm sóc sức khỏe trên toàn thế giới. Carbapenem được xem là kháng sinh mạnh nhất vì ít bị ảnh hưởng bởi các cơ chế đề kháng thông thường như các kháng sinh khác, phổ tác dụng rộng với các vi khuẩn đa đề kháng và độc tính thấp, nhưng gần đây sự xuất hiện của kháng carbapenem trong *A. baumannii* đã trở thành mối quan tâm toàn cầu bao gồm cả Việt Nam [1], [11].

Trong nghiên cứu này, 88,3% (68/77) các chủng *A. baumannii* đề kháng với carbapenem. Tỷ lệ kháng carbapenem ở hai bệnh viện tương đối cao và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự đề kháng carbapenem ở *A. baumannii* giữa Bệnh viện Trung

ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế ($p > 0,05$). Những nghiên cứu trước đó, tại thành phố Hồ Chí Minh - Việt Nam, tỷ lệ kháng carbapenem ở *Acinetobacter spp.* tăng từ 43% (2009-2010) lên 80% năm 2010 và tới 84% (2011-2012). Tỷ lệ này ở 14 tỉnh thành Việt Nam (2012-2013) là 89% [3]. Từ đó cho thấy sự gia tăng về tỷ lệ và kháng thuốc kháng sinh carbapenem của *A. baumannii* đã và đang trở thành vấn đề rất nghiêm trọng.

3.3. Phát hiện các gen mã hoá carbapenemase ở vi khuẩn *A. baumannii* kháng thuốc carbapenem.

Thực hiện các kỹ thuật PCR đa mồi đối với 68 chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng thuốc carbapenem.



Hình 3.2. Kết quả PCR đa mồi bla_{NDM} và bla_{KPC} chỉ gen bla_{NDM} được phát hiện.

- 1, 20: thang DNA chuẩn 100 bp;
2- 18: Kết quả PCR của các mẫu;
19: Chứng âm.

Bảng 3.3. Tỷ lệ các gen mã hoá carbapenemase được phát hiện ở các chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng carbapenem

Gen	n	%
bla_{OXA-51}	68	100
bla_{OXA-23}	58	85,3
bla_{OXA-58}	19	27,9
bla_{OXA-24}	0	0
$bla_{OXA-51'}$, $bla_{OXA-23'}$, bla_{OXA-58}	13	19,1
bla_{VIM}	0	0
bla_{SIM-1}	0	0
bla_{GIM-1}	0	0
bla_{SPM-1}	0	0
bla_{KPC}	0	0
bla_{IMP}	3	4,4
bla_{NDM}	8	11,8
bla_{IMP} , bla_{NDM}	2	2,9
bla_{OXA-58} , bla_{IMP} , bla_{NDM}	1	1,5

Sự xuất hiện các gen mã hoá carbapenemase lớp D OXA và metallo- β -lactamases (MBL) lớp B đóng vai trò chủ đạo với sự đề kháng carbapenem đối với *A. baumannii* trên toàn thế giới [1]. Theo nghiên cứu của chúng tôi, gen *bla*_{OXA-51} được phát hiện ở 100% các chủng vi khuẩn *A. baumannii*, đây là gen nội tại giúp vi khuẩn kháng tự nhiên với carbapenem và chỉ có ở *A. baumannii*. Ở 68 chủng vi khuẩn *A. baumannii* kháng carbapenem, tỉ lệ các gen lần lượt được phát hiện là: gen *bla*_{OXA-23} (85,3%, 58/68 chủng vi khuẩn), gen *bla*_{OXA-58} (27,9%, 19/68 chủng vi khuẩn), gen *bla*_{IMP} (4,4%, 3/68 chủng vi khuẩn), gen *bla*_{NDM} (11,8%, 8/68 chủng vi khuẩn). Ngoài ra, sự xuất hiện đồng thời của hai loại gen (*bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}) đã được phát hiện ở 2/68 chủng *A. baumannii* kháng carbapenem, tức những chủng này mang đồng thời hai loại gen *bla*_{IMP} và *bla*_{NDM}. Thêm vào đó, sự xuất hiện đồng thời của ba loại gen (*bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-58}) hoặc (*bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}) cũng đã được phát hiện với tỉ lệ lần lượt là 19,1% (13/68 chủng vi khuẩn) và 1,5% (1/68 chủng vi khuẩn). Các gen *bla*_{OXA-24}, *bla*_{VIM}, *bla*_{SIM-1}, *bla*_{GIM-1}, *bla*_{SPM-1}, *bla*_{KPC} không tìm thấy trong số chủng phân lập của chúng tôi. Những nghiên cứu trước đó đã chứng minh gen *bla*_{OXA-23} được xem như là nguyên nhân quan trọng đối với sự đề kháng carbapenem ở *A. baumannii* trên toàn thế giới [5]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy kháng carbapenem ở *A. baumannii* chủ yếu liên quan đến gen *bla*_{OXA-23} (85,3%), phát hiện này tương tự như những báo cáo trước đây ở trong nước và nước ngoài [5], [11].

Trong những chủng *A. baumannii* kháng carbapenem, 8 chủng vi khuẩn có kết quả dương tính với gen, trong 8 chủng này có 2 chủng dương tính với gen *bla*_{IMP}. Gen *bla*_{NDM} có thể lan truyền trong quần thể vi khuẩn thông qua chuyển gen

ngang bằng cách chuyển đổi hoặc liên hợp làm cho nó có thể di chuyển nhanh từ tế bào này sang tế bào [9]. Nghiên cứu này cho thấy NDM là gen MBL ưu thế. Nó cũng tương tự như những báo cáo trước đây từ Việt Nam và các nước khác [9], [11]. Ngoài ra, ở Việt Nam đã ghi nhận sự xuất hiện đồng thời của hai gen *bla*_{OXA-58} và *bla*_{NDM} [10], thêm vào đó sự xuất hiện đồng thời của hai gen *bla*_{OXA-23} và *bla*_{NDM} cũng được ghi nhận lần đầu tiên ở Nhật [7]. Hơn thế nữa, nghiên cứu của chúng tôi đã phát hiện sự xuất hiện đồng thời của hai loại gen (*bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}) và ba loại gen (*bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-58}) hay (*bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}) đối với các chủng *A. baumannii* kháng carbapenem. Những kết quả trên cho thấy tỉ lệ xuất hiện của các gen kháng thuốc trong vi khuẩn *A. baumannii* được phân lập từ hai bệnh viện ở Huế là rất cao, giải thích được nguyên nhân cơ bản của sự đề kháng carbapenem của chủng vi khuẩn phân lập được ở hai bệnh viện này.

4. KẾT LUẬN

Tỉ lệ các chủng vi khuẩn *A. baumannii* đề kháng carbapenem ở bệnh viện Trung ương và bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế là rất cao. Nghiên cứu này giúp chúng ta hiểu rõ hơn về cơ chế kháng carbapenem trong những phân lập *A. baumannii* ở bệnh viện Trung ương và bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế, giúp thầy thuốc lâm sàng cân nhắc trong việc chọn lựa và chỉ định kháng sinh trong điều trị nhiễm trùng gây ra bởi tác nhân gây nhiễm trùng bệnh viện này. Ngoài ra, sự nổi lên của các gen mã hoá carbapenemase khác nhau như là nguyên nhân chủ yếu gây ra sự đề kháng carbapenem của các chủng *A. baumannii* phân lập được, ảnh hưởng nghiêm trọng đến việc lựa chọn điều trị cho hiện nay và tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amudhan S. M., Sekar U., Arunagiri K., Sekar B., (2011), "OXA beta-lactamase-mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*", *Indian J. Med. Microbiol.*, vol. 29, no. 3, pp. 269–274.
2. Ellington M. J., Kistler J., Livermore D. M., and Woodford N., (2007), "Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- β -lactamases" *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 59, no. 2, pp. 321–322.
3. Hsu L. Y., Apisarnthanarak A., Khan E., Suwantararat N., Ghafur A., and Tambyah P. A., (2017), "Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and Enterobacteriaceae

in South and Southeast Asia", *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 30, no. 1, pp. 232–238.

4. Lee Y., T., Kuo S.C., Chiang M.C et al. (2012), "Emergence of carbapenem-resistant non- *baumannii* species of *Acinetobacter* harboring a *bla*_{OXA-51-like} gene that is intrinsic to *A. baumannii*", *Antimicrob Agents Chemother*, 56(2), pp. 1124–1127.

5. Luo T. L., Rickard A. H., Srinivasan U., Kaye K. S., and Foxman B., (2015), "Association of *bla*_{OXA-23} and *bap* with the persistence of *Acinetobacter baumannii* within a major healthcare system", *Front. Microbiol.*, vol. 6.

6. Munoz-Price L. S. and Weinstein R. A., (2008), "Acinetobacter infection", *N. Engl. J. Med.*, vol. 358, no. 12, pp. 1271–81.
7. Nakazawa Y. *et al.*, (2013), "A case of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* transferred from India to Japan", *J. Infect. Chemother.*, vol. 19, no. 2, pp. 330–332.
8. Poirel L., Walsh T. R., Cuvillier V., and Nordmann P., (2011), "Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes", *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 70, no. 1, pp. 119–123.
9. Rolain J. M., Parola P., and Cornaglia G., (2010), "New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1): towards a new pandemic", *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 16, no. 12, pp. 1699–1701.
10. Tada T. *et al.*, (2015), "Dissemination of clonal complex 2 *Acinetobacter baumannii* strains co-producing carbapenemases and 16S rRNA methylase ArmA in Vietnam", *BMC Infect. Dis.*, vol. 15, no. 1, p. 433.
11. Tran D. N. *et al.*, (2016), "Emergence of New Delhi metallo-beta-lactamase 1 and other carbapenemase-producing *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex among patients in hospitals in Ha Noi, Viet Nam", *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, pp. 1–7.
12. Wang H. *et al.*, (2007) "Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese Hospitals", *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, no. 11, pp. 4022–4028.
13. Woodford N. L. D., Ellington MJ, Coelho JM, Turtonb JF, Warda ME, Brownc S, Amyes SGB, (2006), "Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp.", *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 27, pp. 351–3.