



## Variabilidad genética de *Acinetobacter baumannii* en un hospital de la Ciudad de México

Esperanza Duarte-Escalante,\* María Del Rocío Reyes-Montes,\* Mónica Alethia Cureño-Díaz,\*\* Gustavo Acosta-Altamirano,\*\*\* Erick Martínez-Herrera,\* María Guadalupe Frías-De León\*\*\*\*

### RESUMEN

**Introducción.** Las infecciones por *Acinetobacter baumannii* se presentan generalmente en forma de brotes epidémicos, con elevada tasa de mortalidad debido a la multiresistencia a antibióticos. El análisis molecular de los brotes ha mostrado alta diversidad genética y la presencia de diferentes clones epidémicos, pero éstos no han sido identificados en nosocomios de la Ciudad de México. **Objetivo.** Determinar la variabilidad genética de *A. baumannii* en un hospital de la Ciudad de México. **Material y métodos.** Se amplificó el DNA de 12 aislados clínicos de *A. baumannii*, multiresistentes, mediante RAPD con cuatro oligonucleótidos. A partir de los patrones polimórficos se construyó un dendrograma por UPGMA, un diagrama multidimensional por componentes principales y se calculó el coeficiente de correlación cofenética (CCCr). La diversidad genética se calculó por el índice de Shannon (I) y la diversidad genética de Nei, utilizando frecuencias alélicas, la heterocigosidad esperada para cada población y la heterocigosidad promedio. La estructura de reproducción se determinó con el índice de asociación ( $I_A$ ). **Resultados.** El dendrograma mostró la formación de seis grupos (I-VI), sustentados por valores de bootstrap ( $> 73\%$ ), esta agrupación fue corroborada por el diagrama de componentes principales. Los estimadores de diversidad genética mostraron que los grupos III y IIb, fueron los más y menos variables, respectivamente. Los valores de  $I_A$  indicaron un sistema de reproducción clonal para los grupos IIa y IIb, y recombinante para los grupos III y VI. **Conclusión.** La variabilidad genética entre los aislados de *A. baumannii* evidenció la presencia de nueve clones epidémicos en el hospital.

**Palabras clave.** *Acinetobacter baumannii*, RAPD, variabilidad genética, clon epidémico.

### ABSTRACT

**Introduction.** *Acinetobacter baumannii* infections frequently occur as outbreaks with high mortality rate due to multidrug resistance. Molecular analysis of outbreaks has shown high genetic diversity and the presence of different epidemic clones, but these have not been identified in hospitals of Mexico City. **Aim.** Determine the genetic variability of *A. baumannii* in a hospital in Mexico City. **Material and methods.** The DNA of 12 multiresistant isolates of *A. baumannii* was amplified by RAPD using four random oligonucleotides. From the polymorphic patterns a dendrogram was constructed by UPGMA, a multidimensional diagram of major components and cophenetic correlation coefficient (CCCr) was calculated. Genetic diversity was estimated by Shannon index (I) and Nei genetic diversity, using allele frequencies, expected heterozygosity for each population and the average heterozygosity. The reproduction structure was determined by the rate of association ( $I_A$ ). **Results.** The dendrogram showed the formation of six groups (I-VI), supported by bootstrap high values ( $> 73\%$ ), this group was corroborated

\* Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).  
\*\* Unidad de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria, Hospital Juárez de México.  
\*\*\* Dirección de Finanzas, Subdirección de Aseguramiento de la Salud, ISSSTE.  
\*\*\*\* División de Investigación, Hospital Juárez de México.

by the major components diagram. Estimates of genetic diversity showed that groups IIb and III were the most and least variables, respectively. The  $I_A$  values indicated a clonal reproduction system for IIa and IIb subgroups, and recombinant for III and VI groups. **Conclusions.** Genetic variability among isolates of *A. baumannii* revealed the presence of nine epidemic clones in the hospital.

**Key words.** *Acinetobacter baumannii*, RAPD, genetic variability, epidemic clone.

## INTRODUCCIÓN

Las especies de *Acinetobacter* son ubicuas en la naturaleza y se pueden encontrar en diferentes fuentes, como son áreas contaminadas con hidrocarburos, aguas residuales, vertederos, así como vegetales, animales y seres humanos.<sup>1</sup> Particularmente, *Acinetobacter baumannii* es un cocobacilo Gram-negativo, clínicamente significativo, que surgió como patógeno importante a nivel mundial durante los últimos 20 años, ya que presenta resistencia a la mayoría de los antibióticos y desinfectantes disponibles.<sup>2</sup> *A. baumannii* provoca grandes brotes y persiste entre pacientes hospitalizados, y es capaz de contaminar superficies bióticas y abióticas, como catéteres vasculares, urinarios, dispositivos para intubación endotraqueal y derivaciones de líquido cefalorraquídeo. Asimismo, se ha evidenciado que cepas de *A. baumannii* responsables de epidemias intrahospitalarias muestran características relacionadas con su virulencia y que pueden favorecer su propagación y persistencia en el medio hospitalario, como son la elevada resistencia a la desecación, habilidad para formar biopelículas en superficies abióticas y adhesión a células epiteliales del huésped.<sup>3</sup> De manera que para controlar la propagación es necesario distinguir la cepa de *Acinetobacter* causante del probable brote de la cepa no relacionada epidemiológicamente.

Por otro lado, el aumento en las infecciones nosocomiales causadas por *A. baumannii*, asociado a su resistencia a los antibióticos, además del aumento en el número de pacientes inmunodeprimidos, han sido factores importantes para el desarrollo de estrategias en la caracterización de *A. baumannii*, ya que la mayoría de las infecciones eran atribuidas a esta especie. A partir de la designación de especies en 1986, fue posible identificar varios biotipos, aunque los métodos fenotípicos utilizados para la tipificación de las especies no mostraban resultados consistentes, por lo tanto, varios métodos moleculares como la ribotipificación, electroforesis de campo pulsado, secuenciación del rRNA 16S, tipificación de secuencias multilocus, RFLP (polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción) y RAPD (amplificación al azar del DNA polimórfico), en-

tre otros, han sido utilizados para genotipificar aislados de *Acinetobacter*.<sup>4</sup>

Los análisis moleculares de aislados de *Acinetobacter* han determinado alta diversidad genética, donde cada patrón polimórfico es considerado un clon. Existen evidencias de que en los hospitales persisten diferentes clones epidémicos;<sup>5</sup> sin embargo, la identificación de estos clones no ha sido estudiada en los nosocomios de la Ciudad de México. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la variabilidad genética de aislados de *A. baumannii*, para identificar la presencia de clones epidémicos en un hospital de tercer nivel de la Ciudad de México.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Aislados

Se analizaron 12 aislados de *A. baumannii* obtenidos durante un brote en un hospital de tercer nivel en la Ciudad de México. Los aislados procedían de siete pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos (Ab1-Ab7, Ab9, Ab11 y Ab12), un paciente de neonatos (Ab10) y otro de la Unidad de Cirugía (Ab8) (Cuadro 1). Los aislados fueron previamente identificados, a partir de cultivos puros, mediante el sistema automatizado BD Phoenix® (Becton-Dickinson Diagnostic Systems, EUA); asimismo, se evaluó su susceptibilidad a antibióticos. Los antibióticos evaluados fueron amikacina, cefepima, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino, gentamicina, imipenem, levofloxacino, meropenem, piperacilina-tazobactam y trimetoprim (Cuadro 2). La interpretación de la sensibilidad se ajustó a los puntos de corte establecidos por el CLSI, 2015.<sup>6</sup>

### Extracción de DNA

El DNA de cada aislado se extrajo a partir de cultivos frescos utilizando el Bacteria DNA Preparation Kit (Jena Bioscience, GE), siguiendo las instrucciones de la casa comercial. La concentración del DNA extraído se determinó por espectrofotometría a 260 y 280 nm (DS 11 Spectrophotometer, DeNovix, EUA).

**Cuadro 1.** Aislados de *A. baumannii*.

Aislado	Muestra	Servicio
Ab1	Aspirado percutáneo	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab2	Aspirado percutáneo	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab3	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab4	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab5	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab6	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab7	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab8	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab9	Expectoración con trampa	Unidad de Cirugía
Ab10	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Neonatos
Ab11	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos
Ab12	Expectoración con trampa	Unidad de Cuidados Intensivos Adultos

**Cuadro 2.** Susceptibilidad a antibióticos de aislados de *A. baumannii*.

Antibiótico	CMI/Conc	Interpretación
Amikacina	> 32	R
Cefepina	> 16	R
Cefotaximo	> 32	R
Ceftazidima	> 32	X
Ceftriaxona	> 32	R
Ciprofloxacino	> 2	R
Gentamicina	> 8	R
Imipenem	> 8	R
Levofloxacino	> 4	R
Meropenem	> 8	R
Piperacilina-Tazobactam	> 64/4	R
Trimetoprin-Sulfametoxazol	> 2/38	R

CMI/Conc: concentración mínima inhibitoria/concentración. R: resistente. X: antibiótico no relevante para el microorganismo identificado.

### Amplificación al azar del DNA polimórfico (RAPD)

Para la amplificación del DNA de los aislados de *A. baumannii* se utilizaron los oligonucleótidos 1253 (5'-GTTTCCGCCC-3'), 1281 (5'-AACGCGCAAC-3'), 1283 (5'-GCGATCCCCA-3') y R108 (5'-GTA TTG CCC T-3').<sup>7,8</sup> Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen de 25 µL conteniendo 10 ng de DNA, 100 pmoles de cada oligonucleótido, MgCl<sub>2</sub> 2.5 mM, dNTP 0.2 mM (Jena Bioscience, GE), y Taq DNA polimerasa 1 U (Jena Bioscience) en amortiguador 1X. En todos los ensayos se incluyó un testigo negativo (mezcla de reacción sin DNA). El programa de amplificación consistió en: un ciclo de 7 min a 94°C; se-

guido por 45 ciclos de 1 min a 92 °C, 1 min a 35°C y 1 min a 72 °C, se llevó a cabo una extensión final de 5 min a 72 °C. Los productos de amplificación se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa (Pronadisa, M, ES) al 1.5%, teñido con GelRed™ 30X (Biotium, EUA) en amortiguador TBE 0.5X (45 mM Tris-Base, 45 mM ácido bórico, 1 mM EDTA y pH de 8.3) a 90 v. El marcador de tamaño molecular empleado fue el 100 bp DNA Ladder (Jena Bioscience). Las imágenes de los geles se capturaron en un fotodocumentador Molecular Imager® Gel Doc™ XR (Bio-Rad Laboratories, Inc., EUA).

### Análisis de datos

A partir de los perfiles de los fragmentos de DNA amplificados por RAPD revelados en el gel de agarosa, se construyó una matriz de presencia y ausencia de bandas. Estos datos se procesaron para obtener una matriz de similitud, utilizando el coeficiente de Jaccard.<sup>9</sup> A partir de esta matriz se construyó un dendrograma por medio del UPGMA (método de agrupamiento de pares con la media aritmética no ponderada). Se calculó el coeficiente de correlación cofenética<sup>10</sup> para determinar el grado de relación entre la matriz del dendrograma y la matriz de similitud original. Para observar la relación entre los aislados se construyó un diagrama multidimensional por componentes principales. Se estableció multidimensionalmente el ordenamiento de los aislados, por el análisis de árbol de tendido mínimo. Los análisis se realizaron con el programa NTSYS-PC versión 2.0.<sup>11</sup>

La diversidad genética de los marcadores RAPD se calculó a través del índice de Shannon (I), suponiendo que cada marcador fenotípico representa un locus distinto,<sup>12</sup> y la diversidad genética de Nei, utilizando frecuencias alélicas.<sup>13</sup>

Además, la heterocigosidad esperada para cada población y la heterocigosidad promedio se calcularon utilizando las frecuencias de alelos según el método bayesiano de Zhivotovskiy<sup>14</sup> con el programa PopGene versión 1.31.

Para distinguir entre una estructura de reproducción clonal o recombinante, se utilizó el índice de asociación ( $I_A$ ),<sup>15</sup> una prueba estadística que mide el grado de asociación no aleatoria entre los alelos en diferentes loci (desequilibrio de ligamiento), implementado en LIAN versión 3.5.<sup>16</sup>

## RESULTADOS

Todos los aislados estudiados fueron identificados como *A. baumannii* y mostraron resistencia a los antibióticos probados (Cuadro 2).

Los patrones polimórficos generados con los diferentes oligonucleótidos fueron distintos entre los aislados de *A. baumannii*, revelando diversidad genética entre ellos.

La figura 1 muestra el agrupamiento entre los 12 aislados estudiados, los cuales se asociaron en seis grupos: El grupo I se formó con el aislado Ab10, obtenido de un paciente de la Unidad de Cuidados Intensivos de Neonatos. El grupo II presentó dos subgrupos: el IIa incluyó a los aislados Ab1, Ab2 y Ab7 obtenidos de un mismo paciente de la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos, y el IIb que integró a los aislados Ab5 y Ab6 obtenidos de otro paciente de la misma unidad. La similitud entre los aislados de los subgrupos IIa y IIb fue de 81 y 91%, respectivamente. El grupo III se integró con los aislados Ab4 y Ab12, con 34% de similitud entre ellos. El grupo IV incluyó al aislado Ab8, obtenido de un

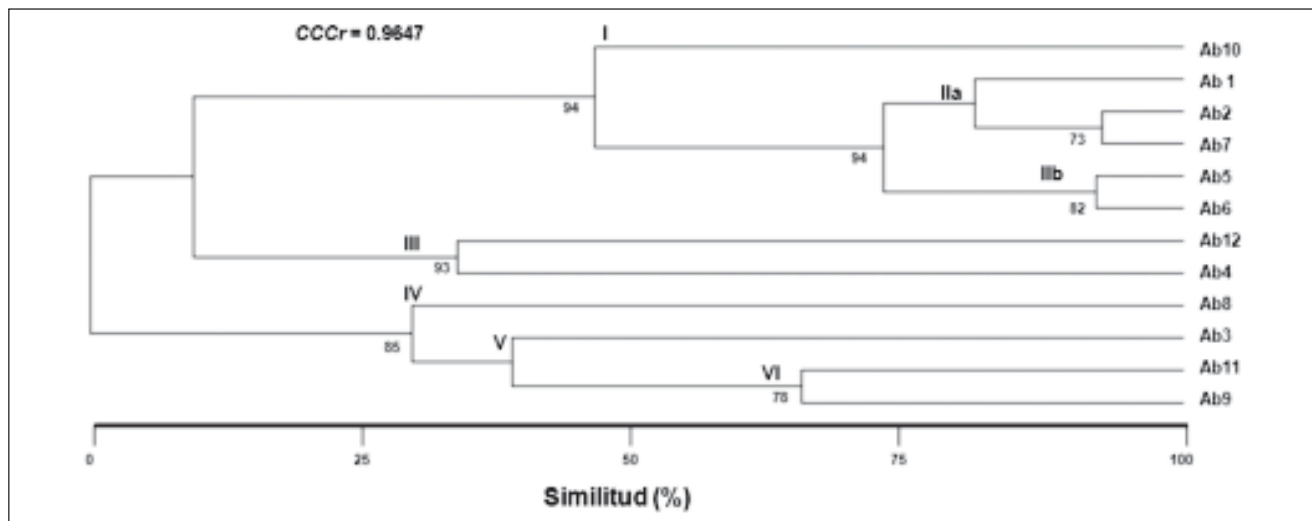
paciente de la Unidad de Cirugía. El grupo V estuvo integrado por el aislado Ab3, y finalmente el grupo VI relacionó a dos aislados, Ab9 y Ab11, con una similitud de 66%. Los aislados de los grupos II, III, V y VI fueron obtenidos de pacientes ubicados en la Unidad de Cuidados Intensivos Adultos. La agrupación de los aislados estudiados fue sustentada por valores altos de bootstrap (73-94%) y por el valor de  $CCCr = 0.9647$ ,  $p = 0.0004$ , el cual demuestra que la relación entre el dendrograma y la matriz de similitud es verdadera y no producto del azar. Para corroborar el agrupamiento del dendrograma se elaboró un árbol de componentes principales, donde se confirmó el agrupamiento de los aislados (Figura 2). Estos análisis revelan la presencia de, por lo menos, nueve clones diferentes en las unidades del hospital.

Los estimadores de diversidad genética, número efectivo de alelos, diversidad genética estimada por el índice de Shannon (I) y la heterocigosidad promedio mostraron que el grupo menos polimórfico fue el grupo IIb y el más variable fue el grupo III (Cuadro 3).

Los valores estimados de  $I_A$  para los aislados de los subgrupos IIa y IIb indicaron un sistema de reproducción clonal, mientras que los valores de  $I_A$  para los grupos III y VI mostraron un sistema recombinante (Cuadro 4), lo que concuerda con los estimadores de variabilidad genética obtenidos.

## DISCUSIÓN

La aparición y propagación de *A. baumannii* resistentes a múltiples fármacos son causantes de importantes infec-

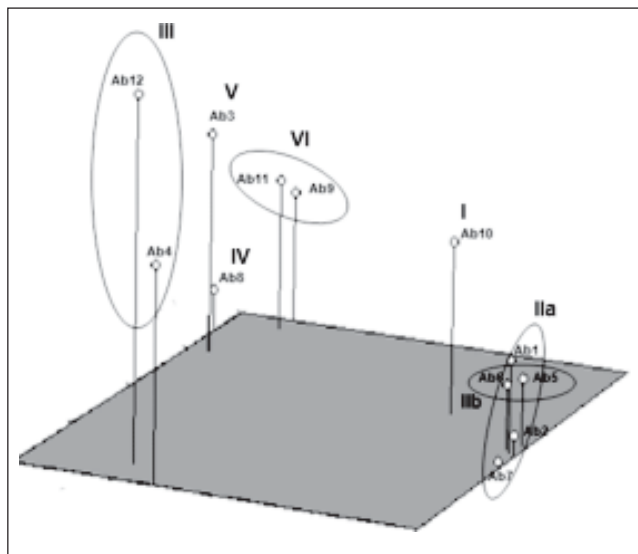


**Figura 1.** Dendrograma generado por UPGMA, a partir de los perfiles polimórficos de los aislados de *A. baumannii*, obtenidos por RAPD, utilizando el coeficiente de similitud de Jaccard. Los números sobre las ramas corresponden a los valores de bootstrap.

**Cuadro 3.** Indicadores de diversidad genética de poblaciones de *A. baumannii*.

Población	P (%)	$n_e$	h	I
Ila	6.67	1.051 ± 0.206	0.028 ± 0.109	0.040 ± 0.156
Ilb	2.22	1.015 ± 0.105	0.009 ± 0.061	0.013 ± 0.090
III	31.11	1.220 ± 0.331	0.128 ± 0.193	0.188 ± 0.283
VI	11.11	1.078 ± 0.224	0.046 ± 0.131	0.067 ± 0.192

P: polimorfismo.  $n_e$ : número efectivo de alelos. I: diversidad genética, índice de Shannon. h: heterocigosidad. Ia: aislados Ab1, Ab2, Ab7. Ib: aislados Ab5, Ab6. II: aislados Ab4, Ab12. III: aislados Ab3, Ab9, Ab 11; Ab8, Ab10.

**Figura 2.** Árbol de componentes principales, que representa la relación entre los aislados de *A. baumannii* tipificados por RAPD.

ciones nosocomiales, entre las que se incluyen bacteremia, neumonía asociada a la ventilación, meningitis, infecciones de vías urinarias y quemaduras y se ha convertido en un grave problema en la práctica clínica, por lo que el diagnóstico y la tipificación molecular juegan un papel importante en estudios epidemiológicos de cepas de *A. baumannii* entre aislados estrechamente relacionados. La utilización del RAPD en el presente trabajo se realizó considerando que ha sido un método útil, empleado por varios investigadores<sup>17-21</sup> para tipificar aislados de *Acinetobacter*, además tiene algunas ventajas sobre otros, como el de evaluar huellas digitales a nivel de cepas a través de la PCR, no requiere conocimiento previo de la secuencia diana de DNA, utiliza oligonucleótidos cortos, no específicos, en condiciones de baja temperatura de alineamiento, y los sitios diana de estos oligonucleótidos pueden variar en número y ubicación sobre el genoma, de manera que el tamaño y número de los fragmentos amplificados difieren,

**Cuadro 4.** Estructura de reproducción de aislados de *A. baumannii*.

Grupo	Aislados	$I_A$
Ila	Ab1, Ab2, Ab7	0.822 (< 0.001)
Ilb	Ab5, Ab6	0.917 (< 0.001)
III	Ab4, Ab12	0.163 (< 0.001)
VI	Ab9, Ab11	0.614 (< 0.001)

$I_A$ : índice de asociación.

por lo que se pueden obtener perfiles polimórficos que permiten genotipificar aislados o cepas.<sup>4</sup> A pesar de estas ventajas, algunos investigadores han cuestionado la reproducibilidad del método; sin embargo, el RAPD ha sido empleado para tipificar con éxito, otros organismos como los hongos, y ha mostrado una buena reproducibilidad.<sup>7</sup>

Los aislados de *A. baumannii* incluidos en este estudio evidenciaron diferentes patrones polimórficos, no obstante que todos los aislados, recuperados de pacientes afectados durante un aparente brote de neumonía causado por esta bacteria, presentaron el mismo perfil de resistencia a los antibióticos probados. El dendrograma mostró que los aislados Ab1 y Ab2, obtenidos por aspiración percutánea de un paciente antes de la manifestación de neumonía por *A. baumannii*, y el aislado Ab7, procedente del mismo paciente cuando presentaba neumonía, están muy relacionados entre sí, lo que sugiere que la infección del paciente fue causada por la clona que se encontraba colonizando la piel. Asimismo, en el caso de los aislados Ab5 y Ab6, que fueron obtenidos de un mismo paciente, se observó que también están muy relacionados entre sí, por lo que puede considerarse una sola clona. Los aislados que formaron los grupos III (Ab4 y Ab12) y VI (Ab9 y Ab11) mostraron baja similitud entre ellos y además, de acuerdo con los estimadores de diversidad, resultaron ser los más variables, por lo que se puede considerar que cada aislado representa una clona distinta. Los aislados Ab3, Ab8 y Ab10 formaron grupos independientes, revelando variabilidad genotípica entre ellos. Una probable explicación de la diversidad ge-

nética encontrada entre los aislados estudiados puede ser la presencia de elementos móviles, como secuencias de inserción, plásmidos o islas genómicas.<sup>22</sup>

Los hallazgos de este estudio permitieron demostrar que lo que aparentaba ser un brote de neumonía por *A. baumannii* multirresistente a los antibióticos fue en realidad una serie de casos esporádicos que coincidieron en tiempo y espacio, ya que las infecciones fueron causadas por nueve clonas distintas.

Es importante destacar la necesidad del estudio de la variabilidad genética de los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales, como *A. baumannii*, ya que esta variabilidad puede ser causante de la resistencia a los antibióticos y del surgimiento de cepas más virulentas, por lo que conocer la epidemiología molecular de estos microorganismos puede ayudar en la implementación de las medidas de prevención y/o control de brotes.

## CONCLUSIONES

La alta variabilidad genética encontrada entre los aislados de *A. baumannii* evidenció la presencia de nueve clones epidémicos en el hospital, un hecho significativo si se considera que la diversidad genética puede generar cepas más virulentas y resistentes a antibióticos, lo que puede repercutir directamente en el tratamiento de los pacientes y en su estancia hospitalaria.

## AGRADECIMIENTOS

A la Q. B. P. Concepción Cu Quijano, encargada del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Juárez de México, por proporcionar los aislados clínicos incluidos en el presente estudio.

## REFERENCIAS

1. Al Atrouni A, Joly-Guillou ML, Hamze M, Kempf M. Reservoirs of non-baumannii *Acinetobacter* species. *Front Microbiol* 2016; 7: 49.
2. González-Villoria AM, Valverde-Garduno V. Antibiotic-Resistant *Acinetobacter baumannii* increasing success remains a challenge as a nosocomial pathogen. *J Pathog Volume* 2016, Article ID 7318075, 10 pages. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/731807>
3. Zarrilli R. *Acinetobacter baumannii* virulence determinants involved in biofilm growth and adherence to host epithelial cells. *Virulence* 2016; 7: 367-8.
4. Ahmed SS, Alp E. Genotyping methods for monitoring the epidemic evolution of *A. baumannii* strains. *J Infect Dev Ctries* 2015; 9: 347-54.
5. Gräser Y, Klare I, Halle E, Gantenberg R, Buchholz P, Jacobi HD, et al. Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using polymerase chain reaction fingerprinting. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2417-20.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty second Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
7. Reyes-Montes MR, Bobadilla del Valle M, Martínez-Rivera MA, Rodríguez-Arellanes G, Maravilla E, Sifuentes-Osornio J, et al. Relatedness analyses of *Histoplasma capsulatum* isolates from Mexican patients with AIDS-associated histoplasmosis by using histoplasmin electrophoretic profiles and randomly amplified polymorphic DNA patterns. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1404-8.
8. Tribuddharat C, Srfuengfung S, Chiangjong W. Preliminary study of randomly-amplified polymorphic DNA analysis for typing extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Med Assoc Thai* 2008; 91: 527-32.
9. Real R, Vargas JM. The probabilistic basis of Jaccard's index of similarity. *Syst Biol* 1996; 45: 380-5.
10. Sneath PHA, Sokal RR. Taxonomic structure. In: Numerical Taxonomy. San Francisco: W. H. Freeman and Co.; 1973, p. 188-305.
11. Rhoif FJ. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Software Inc., Nueva York. 2000.
12. Allnut TR, Newton AC, Lara A, Premoli A, Armesto JJ, Vergara R, et al. Genetic variation in *Fitzroya cupressoides* (alerce), a threatened South American conifer. *Mol Ecol* 1999; 8: 975-87.
13. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Nat Acad Sci USA* 1973; 70: 3321-3.
14. Zhivotovsky LA. Estimating population structure in diploids with multilocus dominant DNA markers. *Mol Ecol* 1999; 8: 907-13.
15. Maynard-Smith J, Smith NH, O'Rourke M, Spratt BG. How clonal are bacteria? *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4384-8.
16. Haubold B, Hudson RR. LIAN 3.0: detecting linkage disequilibrium in multilocus data. *Bioinformatics* 2000; 16: 847-8.
17. Rynga D, Shariff M, Deb M. Phenotypic and molecular characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* isolated from Delhi, India. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2015; 14: 40.
18. Sikora M, Netsvyetayeva I, Golas M, Swoboda-Kopec E, Walter de Walthoffen S, Sawicka-Grzelak A, et al. The probability of the *Acinetobacter baumannii* strain clonal spreading in donor-recipient systems, as confirmed by the molecular analysis of randomly amplified polymorphic DNA. *Transplant Proc* 2011; 43: 3121-4.
19. Szejbach A, Mikucka A, Bogiel T, Gospodarek E. Usefulness of phenotypic and genotypic methods for metallo-beta-



- lactamases detection in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. *Med Sci Monit Basic Res* 2013; 19: 32-6.
20. Zanganeh Z, Eftekhar F. Correlation of oxacillinase gene carriage with the genetic fingerprints of imipenem-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8: e26545.
  21. Trajkovska-Dokic E, Kotevska V, Kaftandzieva A, Jankoska G, Mircevska G, Petrovska M, et al. Phenotypic and genetic relationship of *Acinetobacter baumannii* isolates. *Prilozi* 2011; 2: 157-68.
  22. Young LS, Sabel AL, Price CS. Epidemiologic, clinical, and economic evaluation of an outbreak of clonal multidrug-

resistant *Acinetobacter baumannii* infection in a surgical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28: 1247-54.

**Solicitud de sobretiros:**

Dra. en C. María Guadalupe Frías-De León  
Av. Instituto Politécnico Nacional, Núm. 5160  
Col. Magdalena de las Salinas.  
Del. Gustavo A. Madero, C.P. 07760  
Ciudad de México  
Tel.: 5747-7560  
Correo electrónico: magpfrias@gmail.com