

EPIDEMIA DE BACTEREMIAS PRIMARIAS POR UNA CEPA ENDÉMICA DE *SERRATIA MARCESCENS* EN UNA UNIDAD DE TERAPIA INTENSIVA

PATRICIA VOLKOW-FERNÁNDEZ, M.C.,⁽¹⁾

SAMUEL PONCE DE LEÓN-ROSALES, M.C., M. EN C.,⁽²⁾

JOSÉ SIFUENTES-OSORNIO, M.C.,⁽³⁾ JUAN J. CALVA-MERCADO, M.C., M. EN C.,⁽⁴⁾

GUILLERMO M. RUIZ-PALACIOS, M.C.,⁽⁵⁾ MARCO A. CERBÓN, M.C., PH.D.⁽⁶⁾

Volkow-Fernández P, Ponce de León-Rosales S,
Sifuentes-Osornio J, Calva-Mercado JJ,
Ruiz-Palacios GM, Cerbón MA.
Epidemia de bacteremias primarias por una
cepa endémica de *Serratia marcescens*
en una unidad de terapia intensiva.
Salud Publica Mex 1993;35:440-447.

RESUMEN

Se describe un brote de bacteremias primarias por Serratia marcescens detectado en la Unidad de Terapia Intensiva (UTI) del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, en los últimos tres días del mes de octubre de 1985. La tasa de bacteremias primarias nosocomiales por S. marcescens durante el periodo pre-epidémico (enero-septiembre de 1985) resultó de 0.28 por ciento; para la fase epidémica (octubre de 1985) de 6.25 por ciento y para la etapa post-epidémica (noviembre de 1985 a mayo de 1986) de 0.6 por ciento. La tasa de los periodos pre y post-epidémicos comparadas con la del epidémico fueron significativamente diferentes ($p < 0.0001$). La cepa responsable del brote fue del biotipo A8b, que es endémica en este hospital; sin embargo el microorganismo responsable mostró un patrón de resistencia antimicrobiana

Volkow-Fernández P, Ponce de León-Rosales S,
Sifuentes-Osornio J, Calva-Mercado JJ,
Ruiz-Palacios GM, Cerbón MA.
Outbreak of primary bacteremia caused by an
endemic strain of *Serratia marcescens*
at an intensive care unit.
Salud Publica Mex 1993;35:440-447.

ABSTRACT

An outbreak of Serratia marcescens bacteremia detected in the intensive care unit (ICU) of a tertiary care center on the last days of October, 1985, is described. The rate of primary S. marcescens nosocomial bacteremia during the pre-epidemic period (January-September 1985) was 6.25 per cent; and for the post-epidemic period compared with the epidemic were significantly different ($p < 0.0001$). The outbreak strains belonged to the biotype A8b, which has been endemic in our hospital. The responsible organism exhibited an unusual antimicrobial resistance pattern associated to the presence of a specific plasmid (greater than 50 kilobases), which showed similar fragments after restriction endonuclease digestion. No specific risk factors were identified in the case-control study. The outbreak was probably related to a greater influx of infected

(1) Jefa del Departamento de Infectología, Instituto Nacional de Cancerología, Secretaría de Salud (SSA), México.

(2) Jefe de la División de Epidemiología Hospitalaria y Calidad de la Atención Médica, Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ), SSA.

(3) Jefe del Laboratorio de Microbiología Clínica, Departamento de Infectología, INNSZ-SSA.

(4) Jefe de la Unidad de Epidemiología Clínica, Departamento de Infectología, INNSZ-SSA.

(5) Jefe del Departamento de Infectología, INNSZ-SSA.

(6) Jefe del Laboratorio de Biología Molecular, Departamento de Biología de la Reproducción, INNSZ-SSA.

Fecha de recibido: 22 de mayo de 1992 Fecha de aprobado: 15 de octubre de 1992

diferente debido a la presencia de un plásmido específico (mayor de 50 kilobases), que presentó un fragmento similar posterior a la digestión con endonucleasas de restricción. No se identificó ningún factor de riesgo específico en el estudio de casos y controles. El aislamiento frecuente de *S. marcescens* en sangre de pacientes en la UTI fue el primer signo del brote y el reforzamiento de las medidas de control de infecciones facilitó su resolución.

Palabras clave: epidemia, *Serratia marcescens*, bacteremia nosocomial primaria, plásmidos, México

patients, resulting in less careful infection control measures, due to the emergency situation which suffered the hospital after the earthquakes in 1985. The unusual high rate of blood isolation of *S. marcescens* at the ICU was the first sign of the outbreak. The prompt reinforcement of infection control policies facilitated its resolution.

Key words: outbreak, *Serratia marcescens*, nosocomial bacteremia, plasmids, Mexico

Solicitud de sobretiros: Dr. José Sifuentes Osornio, Jefe del Laboratorio de Microbiología Clínica, Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", Vasco de Quiroga 15, colonia Tlalpan, 14000 México, D.F.

SERRATIA MARCESCENS ES un patógeno nosocomial reconocido; se cuenta con información sobre un gran número de brotes asociados con contaminación de catéteres, soluciones desinfectantes y transductores para tensión arterial.¹⁻³ La mayor parte de estos brotes ocurrieron en unidades de terapia intensiva (UTI). Frecuentemente, los microorganismos reponibles son multirresistentes y portadores de plásmidos transferibles.⁴

Este estudio describe un brote de bacteremias primarias nosocomiales (BPN) causado por *S. marcescens* durante el mes de octubre de 1985, en la UTI del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) en la Ciudad de México, que es un centro de atención terciaria y enseñanza que cuenta con 160 camas. El brote ocurrió después de los sismos del mes de septiembre de 1985, cuando el hospital recibió un mayor número de pacientes infectados de otros centros hospitalarios. Si bien *S. marcescens* se ha identificado como un organismo endémico en nuestro hospital,⁵ el patrón diferente de susceptibilidad antimicrobiana sugirió que probablemente este microorganismo había sido introducido al hospital por estos pacientes infectados; sin embargo, el microorganismo causal resultó ser la misma cepa endémica pero con un patrón de susceptibilidad antimicrobiana y perfil diferente de plásmidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Antecedentes

La UTI del INNSZ cuenta con ocho camas y un promedio de 40 ingresos por mes. Las camas están separadas por paredes y vidrio. Antes del brote, en el turno diurno se contaba con una enfermera por cada paciente y en el de la noche una se ocupaba de tres pacientes.

Definición de caso

Se definió como caso a todo paciente admitido a la UTI durante octubre de 1985 que desarrolló manifestaciones clínicas sugestivas de bacteremia (fiebre >38°C, escalofríos, hipotensión arterial, confusión mental o choque) y con hemocultivos positivos para *S. marcescens*.

Estudio epidemiológico

Se calculó la prevalencia de bacteremia por *S. marcescens* en la UTI, en los nueve meses previos al brote (periodo pre-epidémico), durante octubre de 1985 (periodo epidémico) y siete meses después de ser reforzadas las medidas de control de infecciones (periodo post-epidémico).⁶ El estudio se realizó por revisión de expedien-

tes de los pacientes internados en la UTI y los registros de vigilancia de Epidemiología Hospitalaria.

Estudio de casos y controles

Se efectuó un estudio de casos y controles para investigar factores de riesgo posibles. Se definió como control a todo paciente admitido a la UTI, 10 días antes o después del brote, que no desarrolló bacteremia por *S. marcescens*. Se analizaron las siguientes variables: tiempo de estancia en la UTI, cateterismo arterial, línea venosa central, catéter de Swan-Ganz, nutrición parenteral, diálisis peritoneal, hemodiálisis, sonda intravesical, ventilación asistida, uso previo de antibióticos, transfusión de sangre y número de gasometrías realizadas.

Bacteriología

Se examinaron a todos los aislados clínicos de sangre de *S. marcescens* que se recuperaron durante el periodo de estudio, así como a todos los pacientes que llegaron infectados al INNSZ poco tiempo después de los sismos de 1985 (19 y 20 de septiembre) y que se recuperaron.

Se encontraron cuatro casos de *S. marcescens* a través del análisis de sangre de pacientes internados en la UTI y 13 más de hemocultivos tomados de pacientes hospitalizados en otras áreas del INNSZ. Se recuperaron cuatro aislados clínicos de: secreciones bronquiales (2), líquido peritoneal (1) y herida de catéter infectado (1). Los 21 aislados clínicos fueron identificados con API-20E (Analytab Products, Plainview N.Y.), fermentación de rafinosa y de D-xilosa, y producción de ADNsa; todos los organismos fueron tipificados con el método modificado de Grimont.^{7,8} Se realizaron cultivos con muestras del medio ambiente: jaboneras, catéteres urinarios, equipo de ventilación mecánica y nebulizadores con hisopos e infusión de cerebro corazón con subcultivos después de encubar a 35°C por siete días.

Se realizó sensibilidad antimicrobiana por el método de microdilución a los siguientes antibióticos: amikacina, gentamicina, estreptomycin, tobramicina, carbenicilina, mezlocilina, piperacilina, imipenem, aztreonam, cefoxitina, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cloramfenicol, trimpretroprimsulfametoxazol (sxt) y norfloxacin, de acuerdo a las recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).⁹

Análisis de ácido desoxiribonucleico (ADN)

Los plásmidos fueron obtenidos mediante el método de extracción alcalina rápida¹⁰ y se realizó electroforesis de los fragmentos de ADN en gel de agarosa al 0.7 por ciento (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) a 66 mV por seis horas.^{11,12} El ADN recuperado se digirió con las desoxiribonucleasas *Hind*-III (P-L Biochemical, Inc., Milwaukee, WI) y *Pst*-1 (Promega, Madison, WI), y se efectuó electroforesis en las mismas condiciones.¹²

Se practicó conjugación en un medio selectivo (agar de TYE) con tobramicina (10 µg/ml) y estreptomycin (25 µg/ml); se usaron como receptores *Escherichia coli* HB101 (resistente a estreptomycin) y un aislado clínico reciente de *Klebsiella pneumoniae* (resistente a estreptomycin). Se hizo transformación en *E. coli* HB101, con ADN de plásmidos obtenido de la *S. marcescens* responsable del brote epidémico, por el método de choque de calor.¹²

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con la prueba exacta de Fisher¹³ y el valor de p se calculó con base en una frecuencia observada y esperada, al asumir la distribución Poisson, de acuerdo al método descrito por Miettinen.¹⁴ La magnitud de la asociación entre cada uno de los factores de riesgo estudiado y el tener una infección nosocomial por *S. marcescens*, se expresó mediante el cálculo de la razón de momios (o de productos cruzados), en tablas de contingencia de 2 por 2.

RESULTADOS

Análisis epidemiológico

Durante el periodo pre-epidémico se presentaron 362 egresos y nueve bacteremias primarias en la UTI (tasa de 2.5%), una de ellas fue causada por *S. marcescens* (tasa de 0.3%); en el periodo epidémico hubo 48 egresos y tres bacteremias primarias, todas ocasionadas por *S. marcescens* (tasa de 6.25%). En el periodo post-epidémico se manifestaron 365 egresos, sólo dos bacteremias primarias identificadas (tasa 0.6%), ninguna fue originada por *S. marcescens* (tasa 0%).

Cuando se comparó la tasa de bacteremias primarias nosocomiales en la UTI durante los periodos pre y post-

epidémicos con el epidémico (figura 1), se observó una diferencia significativa ($p= 0.025$). Esta resultó aún mayor cuando se cotejaron las tasas de bacteremias primarias nosocomiales por *S. marcescens* ($p< 0.0001$).

Cuando se confrontó la tasa de bacteremias primarias nosocomiales que ocurrieron en todo el hospital no se observó diferencia estadística ($p> 0.10$); en cambio. La comparación entre la tasa de bacteremia primaria por *S. marcescens* en todas las áreas del hospital demostró una diferencia estadística significativa ($p= 0.002$) a favor del periodo epidémico (figura 2).

El caso índice fue el de un paciente receptor de riñón cadavérico que se diagnosticó el 26 de octubre de 1985, cuatro días después de su ingreso al hospital para el trasplante. El segundo fue el de un enfermo de pancreatitis aguda que tenía menos de 24 horas de internado sin antecedente de catéteres o vías venosas previas. El tercero ingresó con diagnóstico de tétanos y neumonía por aspiración, la bacteremia por *S. marcescens* se identificó el 29 de octubre, 31 días después de entrar en el hospital. Dos de los pacientes fallecieron a consecuencia de choque séptico. Al estudiar los casos y controles se encontraron dos enfermos que desarrollaron signos y síntomas de bacteremia; sin embargo no se les tomaron hemocultivos, pero en uno de ellos se aisló *S. marcescens* de secreción bronquial.

Estudio de casos y controles

Al realizar el análisis univariado de los factores de riesgo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres casos y los nueve controles en: el tiempo de estancia en la UTI; el uso y el lapso de permanencia del catéter arterial, de la línea venosa central, del catéter de Swan-Ganz, de nutrición parenteral, de diálisis peritoneal, de hemodiálisis o de sonda intravesical; el empleo de ventilación asistida; la utilización previa de antibióticos de espectro reducido o amplio; la transfusión de sangre o derivados y número de gasometrías realizadas.

Microbiología

Se tipificaron 21 aislados clínicos de *S. marcescens*: 17 de sangre (ocho de biotipo A8a, siete del A8b y dos del TCT), dos recuperados de secreciones bronquiales (uno de A8a y el otro de A4a) y dos más A8b de otro origen. Las *S. marcescens* del biotipo A8b fueron: los tres aislados clínicos del brote, uno de líquido peritoneal (una de las víctimas del sismo que ingresó con peritonitis por diálisis con catéter rígido, a quien se atendió un mes antes del brote), una paciente de herida de catéter de Swan Ganz, (esta enferma se hospitalizó en la UTI durante el brote),

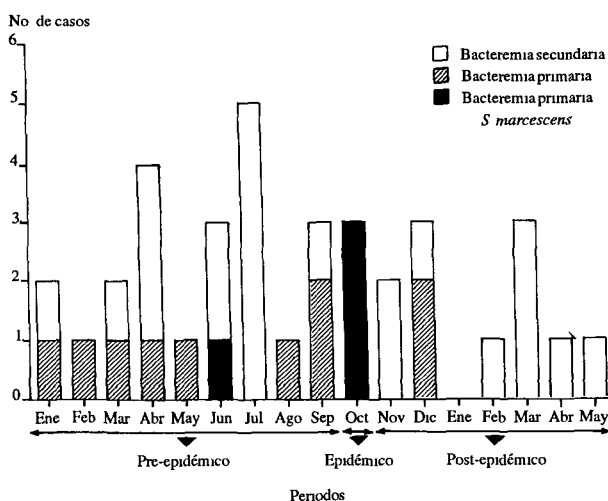


FIGURA 1. Bacteremias nosocomiales en la Unidad de Terapia Intensiva, INNSZ, México, 1985-1986

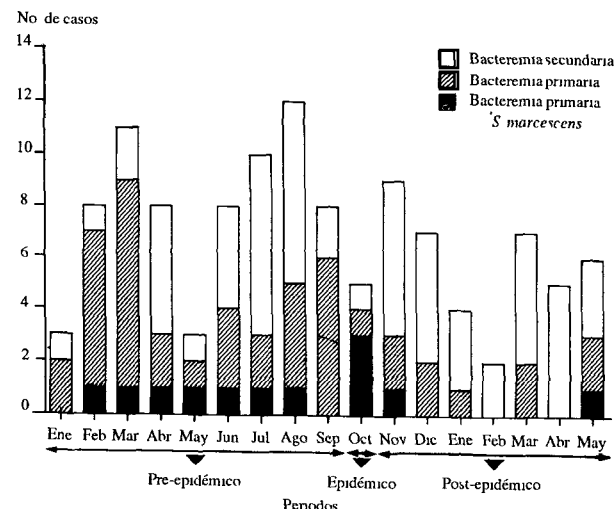


FIGURA 2. Bacteremias nosocomiales en servicios de hospitalización, INNSZ, México, 1985-1986

y otras cuatro que se recuperaron de sangre de enfermos que no se relacionaron ni temporal ni geográficamente con el brote. En el periodo de estudio se recuperaron de sangre 10 cepas más de *S. marcescens*, ocho del biotipo A8a y dos del TCT. Ningún otro aislado clínico A8b se detectó durante la fase epidémica. Al final del periodo post-epidémico se identificó una bacteremia por *S. marcescens* A8b en las áreas de hospitalización. No se recuperó *S. marcescens* de los cultivos de medio ambiente (nebulizadores, soluciones antisépticas, superficies inertes y jaboneras).

Antibióticos y análisis de ADN

El patrón de sensibilidad del biotipo A8b se muestra en el cuadro I, las tres cepas del brote y la aislada de la herida del catéter presentan una resistencia (cuadro I) y un perfil de plásmidos similar (figura 3), el cual es diferente al del organismo aislado del líquido peritoneal (caso 22), cuyo patrón de defensa es mayor aún. El peso molecular del plásmido común es mayor de 50 Kd; éste se conjugó con el aislado clínico de *K. pneumoniae* (originalmente

sensible a tobramicina, gentamicina y trimetoprim/sulfametoxazol) (cuadro II y figura 4). No fue posible realizar la conjugación ni la transformación con *E. coli* Hb101. La digestión con *Hind*-III y *Pst*-1 mostró fragmentos idénticos en los tres pacientes aislados del brote, en el de la herida de catéter y en todos los trasconjugantes.

Todos los aislados clínicos fueron susceptibles a: aztreonam, ceftazidima, ceftriaxona, imipenem y norfloxacina, y 5/21 a cefoxitina.

DISCUSIÓN

Este estudio describe un brote de bacteremia primaria nosocomial causada por una cepa endémica de *S. marcescens* biotipo A8b que tuvo lugar en la UTI de un hospital de tercer nivel. Se relacionó con una situación de emergencia, posterior a los sismos de septiembre de 1985; probablemente a causa de una gran afluencia de pacientes graves se relajaron las medidas de control de epidemias. Al restablecer y reforzar las políticas de control de infecciones generales el problema fue resuelto.

CUADRO I
Patrón de resistencia antimicrobiana de los aislados clínicos de *Serratia marcescens* biotipo A8b
INNSZ, México, 1985-1986

Caso No.	Sitio de aislamiento	Plásmido 50 Kd	Agentes antimicrobianos								
			TB	GN	AK	SM	CB	MEZ	PIP	CLO	SXT
01*	Sangre	+	R	R	S	S	R	R	R	S	R
02*	Sangre	+	R	S	S	S	R	R	R	S	R
03*	Sangre	+	R	S	S	S	R	R	S	S	R
26**	Herida	+	R	S	S	S	S	R	S	S	S
12	Sangre	-	S	S	S	S	S	S	S	S	R
17	Sangre	-	S	S	S	S	S	S	S	R	R
18	Sangre	-	S	S	S	R	R	S	R	S	R
19	Sangre	-	S	S	S	S	S	S	S	S	R
22***	Líquido peritoneal	-	R	R	S	S	R	R	R	R	R

Agentes antimicrobianos: TB, tobramicina; GN, gentamicina; AK, amikacina; SM, estreptomicina; CB, carbenicilina; MEZ, mezlocilina; PIP, piperacilina; CLO, cloranfenicol; y SXT, trimetoprim-sulfametoxazol

* Cepa epidémica

** Paciente hospitalizado en la UTI con secreción purulenta en el sitio de inserción del catéter de Swan Ganz

*** Paciente del terremoto

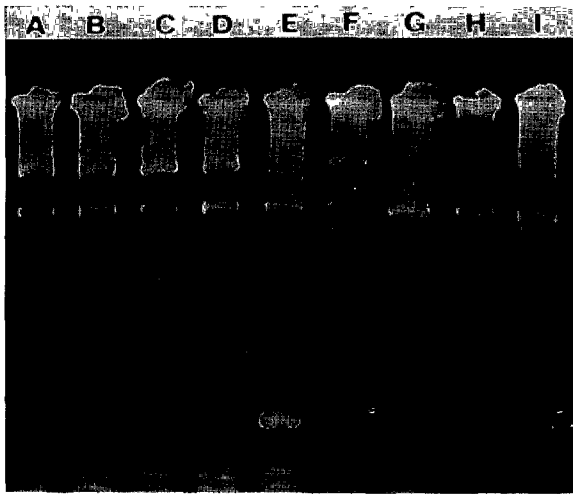


FIGURA 3. Electroforesis del ADN extraído por el método alcalino muestra: en el carril A, *S. marcescens* 1; B, *S. marcescens* 2; C, *S. marcescens* 3; D, *S. marcescens* 26; E, *S. marcescens* 22; F, *S. marcescens* biotipo A8b (multirresistente); G, *S. marcescens* 12; H, *S. marcescens* 17; y en el I, *S. marcescens* UVA 1, biotipo A1a (resistente a tobramicina, proporcionada generosamente por el Dr. Dieter H.M. Gröschel, Centro Médico de la Universidad de Virginia, Charlottesville, Virginia) Se aprecia una primera banda de ADN en los carriles A, B, C, D y F que sugiere la presencia de un plásmido común de aproximadamente 50 Kd; una segunda banda común a todos los organismos (ADN cromosómico) y dos bandas de bajo peso molecular en carriles A, B, C y D que corresponden a plásmidos más pequeños

Las diferencias estadísticas encontradas entre las tasas de bacteremias nosocomiales primarias entre el periodo pre-epidémico, epidémico y post-epidémico permiten definir este grupo de infecciones del torrente sanguíneo como un brote por *S. marcescens* biotipo A8b. Este microorganismo parece ser endémico en nuestro hospital, aunque el patrón de sensibilidad del organismo epidémico fue distinto. Este perfil de resistencia antimicrobiana diferente fue codificado por el plásmido transferible que se conjugó a *K. pneumoniae*. En consecuencia, se asume que este plásmido puede también considerarse como responsable del brote y sería el resultado de una selección natural favorecida por el constante uso de antimicrobianos en la UTI.^{15,16}

Al principio se consideraba que el microorganismo multirresistente había sido introducido al hospital por alguno de los tres pacientes gravemente infectados víctimas de los sismos, porque se trasladaron de otros hospitales con infecciones por *Serratia marcescens* multirresistente; sin embargo se comprobó que correspondía al biotipo endémico de *Serratia*. Aunque el número parece insignificante, tres episodios de bacteremia primaria en cuatro días consecutivos en una UTI de ocho camas ocasionaron una situación grave y urgente; además, el análisis estadístico mostró una diferencia significativa. Este brote fue subestimado ya que en el estudio de casos y controles se encontró a dos pacientes más con signos clínicos de bacteremia pero que debieron ser excluidos del análisis ya

CUADRO II

Patrón de sensibilidad antimicrobiana de los transconjugantes de *Klebsiella pneumoniae*
INNSZ, México, 1985-1986

	Agentes antimicrobianos							SXT
	TB	GN	SM	AK	CB	MEZ	CLO	
<i>K. pneumoniae</i> *	S	S	R	S	R	R	R	S
<i>K. pneumoniae</i> -Sm1**	R	R	R	S	R	R	R	R
<i>K. pneumoniae</i> -Sm2**	R	R	R	S	R	R	R	R
<i>K. pneumoniae</i> -Sm3	R	R	R	S	R	R	R	R
<i>K. pneumoniae</i> -Sm26**	R	R	R	S	R	R	R	R

Agentes antimicrobianos: TB, tobramicina; GN, gentamicina; SM, estreptomina; AK, amikacina; CB, carbenicilina; MEZ, mezlocilina; CLO, cloranfenicol, y STX, trimetoprim-sulfametoxazol

* Cepa receptora

** Transconjugantes obtenidos de la conjugación con la cepa epidémica de *Serratia marcescens* (Sm)

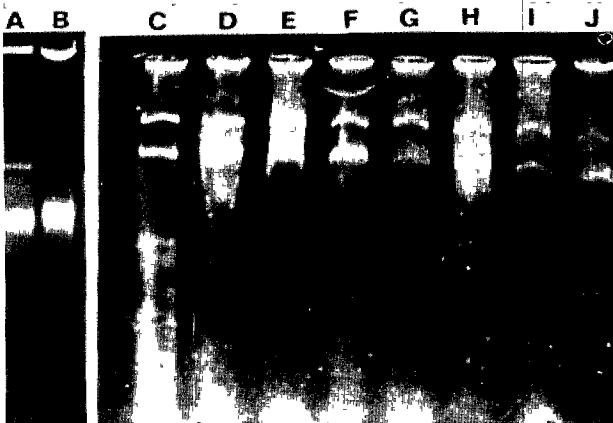


FIGURA 4. Conjugación del ADN del plásmido de peso molecular aproximado de 50 Kd de *S. marcescens* hacia *K. pneumoniae* (sensible a tobramicina): en el carril A, *S. marcescens* 3; B, *K. pneumoniae* (receptor); C, *S. marcescens* 1; D, transconjugante *K. pneumoniae-S. marcescens* 1; E, *S. marcescens* 2; F, transconjugante *K. pneumoniae-S. marcescens* 2; G, *S. marcescens* 3; H, *K. pneumoniae-S. marcescens* 3; I, *S. marcescens* 26; J, *K. pneumoniae-S. marcescens* 26

que no se les realizaron cultivos de sangre; los dos fallecieron sin demostrarse el organismo responsable.

La mayor parte de los brotes informados de bacteremia por *S. marcescens* informados están asociados a catéteres urinarios, transductores intravenosos contaminados y equipo de ventilación asistida.^{2,17,18} Es difícil identificar el origen de la infección ya que en el estudio de casos y controles no se encontraron factores de riesgo estadísticamente significativos y, además, los cultivos del medio ambiente resultaron negativos.

La mortalidad de los casos comprobados de bacteremia primaria por *S. marcescens* se observó en dos de

los tres pacientes. Esta tasa de mortalidad tan alta (66%) es similar a la informada previamente^{1,19} y ocurre en pacientes con enfermedades subyacentes graves. El microorganismo epidémico mostró un patrón de reacción bioquímica similar al de la cepa endémica, esto es biotipo A8b; sin embargo su sensibilidad antimicrobiana fue diferente. Los datos indican que un solo sistema de tipificación no es suficiente para definir una cepa epidémica de *S. marcescens*, dado que en este estudio la cepa epidémica y la endémica pertenecían al mismo biotipo, y fue el patrón de sensibilidad antimicrobiana el que sugirió que eran diferentes,¹ lo que definitivamente se confirmó con el análisis de plásmidos. Por esta razón deben realizarse por lo menos dos métodos de tipificación para estudiar un brote por *S. marcescens*; si no, siempre existirá el riesgo de subestimar este tipo de epidemias. La situación descrita en este estudio parece estar relacionada con problemas técnicos de manejo más que con un reservorio o fuente común, como se describió.²⁰

La fácil conjugación de plásmidos entre la cepa epidémica de *S. marcescens* y un aislado clínico de *K. pneumoniae* demuestra que este tipo de mecanismos de intercambio de material genético puede facilitar la persistencia y diseminación del plásmido en el ambiente hospitalario en diferentes especies, como se explicó previamente.²¹⁻²⁴ Los plásmidos son considerados parcialmente responsables de brotes causados por microorganismos de la misma o de diferentes especies de bacterias.^{16,21}

En conclusión, los médicos deben estar atentos al desarrollo de un brote en situaciones de emergencia que alteren el trabajo cotidiano en las salas de urgencias y en las UTI, como sucedió después de los sismos de la Ciudad de México.

REFERENCIAS

1. Farmer JJ, Davis BR, Hickman FRW. Detection of *Serratia* outbreaks in hospital. *Lancet* 1976;ii:455-459.
2. Donowitz LG, Marsik FJ, Hoyt JW, Wenzel RP. *Serratia marcescens* bacteremia from contaminated pressure transducers. *JAMA* 1979;249:1749-1751.
3. Daschner FD. The epidemiology of *Serratia marcescens*. En: Von Graevenitz A, Rubin SJ, eds. *The Genus Serratia* Boca Raton, Florida: CRC Press, 1980:187-196.
4. Simor AE, Ramage L, Wilcox, Bull SB, Bialkowska-Hobrzanska H. Molecular and epidemiologic study of multiresistant *Serratia marcescens* infections in a spinal cord injury rehabilitation unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1988;9:21-27.
5. Sifuentes-Osornio J, Ruiz-Palacios GM, Gröschel DHM. Analysis of epidemiologic markers of nosocomial *Serratia marcescens* isolates with special reference to the Grimont biotyping system. *J Clin Microbiol* 1986;23:230-234
6. Walter E, Weinstein RA, Dixon RE. Comparison of endemic and epidemic nosocomial infections. *Am J Med* 1981;70:393-397.
7. Grimont PA, Grimont F. Biotyping of *Serratia marcescens* and its use in epidemiological studies. *J Clin Microbiol* 1978;8:73-83.
8. Sifuentes-Osornio J, Gröschel DHM. A modification of the Grimont biotyping system for epidemiologic studies with nosocomial *Serratia marcescens* isolates. *J Clin Microbiol* 1987;25:567-568.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Publication M7-A. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1985.
10. Birnboim HC, Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Research* 1979;7:1513-1523.
11. Miller JH. Experiments in molecular genetics. New York: Cold Spring Harbors Laboratory, 1972:82.
12. Perbal B. A practical guide to molecular cloning. New York: John Wiley and Sons, 1984;190 y 273.
13. Feinstein AR. Clinical epidemiology The architecture of clinical research. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1981:141.
14. Miettinen OS. Comment. *J Am Statist Assoc* 1974;69:355-361.
15. Schaberg DR. Application of plasmid analysis to infection control. *Infect Control* 1986;7:353-354.
16. Shlaes DM, Currie-Mc Cumber CA. Plasmid analysis in molecular epidemiology: A summary and future directions. *Rev Infect Dis* 1986;8:728-746.
17. Wenzel RP, Thompson RL, Landry SM, Rusell BS, Miller PJ, Ponce de León S, Miller GB. Hospital acquired infections in intensive care unit patients: An overview with emphasis on epidemics. *Infect Control* 1983;4:371-375.
18. John JF, Mc Neill WT. Characteristics of *Serratia marcescens* containing a plasmid coding for gentamicin resistance in nosocomial infections. *J Infect Dis* 1981;143:810-817.
19. Zaidi M, Sifuentes-Osornio J, Bobadilla M, Moncada D, Ponce de León S. Epidemic of *Serratia marcescens* bacteremia and meningitis in a neonatal unit in Mexico City. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1989;10:14-20.
20. Ponce de León S, Critchley S, Wenzel RP. Polymicrobial blood stream infections related to prolonged vascular catheterization. *Critical Care Med* 1984;12:856-859.
21. Rubens CE, Farrar WE, Mc Gee ZA, Schaffner W. Evolution of a plasmid mediating resistance to multiple antimicrobial agents during a prolonged epidemic of nosocomial infections. *J Infect Dis* 1981;143:170-181.
22. Olexy WM, Bird TJ, Griebel HG, Farrand SK. Hospital isolates of *Serratia marcescens* transferring ampicillin, carbenicillin and gentamicin resistance to other gram-negative bacteria including *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1979;15:93-100.
23. Olexy VM, Mucha DK, Bird TJ, Griebel HG, Farrand SK. An R plasmid of *Serratia marcescens* transferable to *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherapy* 1982;28:6-17.
24. Tompkins LS, Plorde JJ, Falkow S. Molecular analysis of R factor from multiresistant nosocomial isolates. *J Infect Dis* 1980;141:625-636.