

Artículo Original

Sepsis neonatal por *Serratia marcescens* asociada con nutrición parenteral total.

Serratia marcescens neonatal sepsis associated with total parenteral nutrition

Tedesco-Maiullari Rosa^{1,2}, Romero María³, Sierra Carmen⁴, Velazco Elsa³,
Guevara Armando^{*2,4,5}.

¹ Postgrado en Ciencias Médicas Fundamentales. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes. Mérida. ² Departamento de Parasitología y Microbiología. Escuela de Ciencias de la Salud "Dr. Francisco Battistini". Universidad de Oriente. Ciudad Bolívar. ³ Postgrado en Microbiología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. ⁴ Unidad de Infectología y Microbiología Médica. Complejo Hospitalario "Ruiz y Páez". Ciudad Bolívar. ⁵ Laboratorio de Resistencia Bacteriana. Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas. Universidad de Oriente. República Bolivariana de Venezuela.

Recibido mayo 2012 - Aceptado junio 2012

RESUMEN

S. marcescens es un patógeno oportunista que causa infecciones neonatales invasivas con elevada mortalidad. El objetivo de esta investigación fue determinar las características fenotípicas y genotípicas de aislados de *S. marcescens* involucrados en un brote de infección asociada a los cuidados de la salud ocurrido entre el 20 de octubre y el 4 noviembre del 2008 e identificar la probable fuente de infección. Se realizó un estudio microbiológico de todos los aislados que incluyó la determinación de su perfil de susceptibilidad, la producción de β-lactamasas de espectro expandido (BLEE) y la tipificación molecular mediante electroforesis de campos pulsantes (ECP). Durante el período epidémico se hospitalizaron 29 pacientes, siete presentaron sepsis por *S. marcescens* y cuatro murieron. No se identificó ningún caso en el período pre-epidémico. Se cultivaron 3 muestras de nutrición parenteral total (NPT) y 21 de medicamentos en frascos multidosis (MFM) incluyendo componentes de la NPT. En 37,5% de las muestras (3 NPT y 6 MFM) se obtuvo aislamientos de *S. marcescens* productoras y no productoras de BLEE, estos aislamientos fueron comparados, mediante ECP, con los obtenidos de los pacientes, encontrándose un patrón genotípico único. En conclusión, el brote fue causado por la administración de NPT contaminada.

PALABRAS CLAVE

Serratia marcescens, nutrición parenteral total,

infección neonatal asociada a cuidados de salud.

ABSTRACT

S. marcescens is an opportunistic pathogen causing invasive neonatal infections with high mortality. The aim of this research was to determine the phenotypic and genotypic characteristics of *S. marcescens* isolates involved in an outbreak of infection associated with health care that occurred between October 20th and November 4th, 2008 and to identify the most likely source of infection. A microbiological analysis including the determination of their susceptibility profiles was conducted including the production of extended spectrum β-lactamases (ESBL) and molecular typing by pulsed field electrophoresis (PFGE). During the outbreak 29 patients were hospitalized, seven had sepsis due to *S. marcescens* and four died. No cases in the pre-epidemic period were identified. Three TPN samples and 21 drugs in multidose vials (DMV) including components of the TPN were cultured. 9 samples (37.5%) (3 TPN and 6 DMV), *S. marcescens* ESBL producing and non-producing were isolated, this isolates were compared with those obtained from blood cultures of patients. All isolates presented a unique genotypic pattern by PFGE. In conclusion, the outbreak was caused by the administration of contaminated TPN.

KEY WORDS

Serratia marcescens, total parenteral nutrition,

neonatal infection associated with health care.

INTRODUCCIÓN

Los neonatos hospitalizados son especialmente susceptibles a las infecciones asociadas a los cuidados de salud [1]. Se estima que este tipo de infecciones se producen en 6 a 8,9 por cada 1000 pacientes/día [2], afectando principalmente a los neonatos de muy bajo peso y a los de extremadamente bajo peso al nacer. Estos neonatos requieren largos períodos de hospitalización y están expuestos a numerosos procesos infecciosos debido a la inmadurez de su sistema inmune y a los bajos niveles de anticuerpos transplacentarios adquiridos de la madre [2].

Las infecciones del torrente sanguíneo constituyen las tres cuartas partes de las infecciones asociadas a los cuidados de salud que se producen en los neonatos, siendo los principales factores involucrados en su producción el uso de catéteres vasculares, el bajo peso al nacer, las enfermedades del tracto respiratorio al momento del ingreso y a la administración de nutrición parenteral total (NPT) [1,2,3].

Las infecciones del torrente sanguíneo que se presentan en los primeros días de vida (sepsis neonatal temprana) son producidas principalmente por estreptococos del grupo B y *Escherichia coli*, adquiridos durante el paso por el canal del parto o por vía ascendente cuando hay ruptura prematura de membranas. En la sepsis de inicio tardío, los microorganismos involucrados son los colonizantes del neonato que provienen de la madre, de los cuidadores, así como los adquiridos durante la hospitalización por transmisión horizontal [1]. En este caso, están involucrados los estafilococos coagulasa negativos, *S. aureus*, *Enterococcus* spp. y bacilos Gram negativos, sin embargo, cuando este cuadro clínico se presenta luego de los 30 días de edad, las especies de *Candida* y *Malassezia furfur* juegan un papel preponderante [1,2,4].

A pesar de que clásicamente se ha establecido que los cocos Gram positivos son los principales agentes etiológicos de la sepsis neonatal tardía, algunos autores han reportado que las enterobacterias son los principales agentes causales, siendo *Klebsiella*, *Serratia* y *Enterobacter* los géneros principalmente involucrados [3]. La transmisión de las enterobacterias a los neonatos ocurre usualmente a través de las manos del personal de salud, como también puede suceder mediante soluciones parenterales contaminadas, fórmulas lácteas, leche materna, medicamentos y del ambiente [3,5,6].

Serratia marcescens es habitualmente considerada

como una especie comensal benigna que muy rara vez se encuentra colonizando o produciendo infección en neonatos, sin embargo, en los últimos años han aumentado los reportes de brotes de infección neonatal asociados a los cuidados de salud producidos por este microorganismo [1,3,4,7,8]. El objetivo de esta investigación fue determinar las características fenotípicas y genotípicas de aislados de *S. marcescens* involucrados en un brote de infección neonatal asociada a los cuidados de la salud e identificar la fuente probable de infección.

MATERIALES Y MÉTODOS

El Complejo Hospitalario “Ruiz y Páez” es un centro de tercer nivel con 470 camas, ubicado en Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela, que cuenta con dos Servicios de Perinatología. En el Servicio de Perinatología I se atienden a todos aquellos niños nacidos en ese centro de salud, de partos eutócicos simples y sin antecedentes patológicos perinatales. El Servicio de Perinatología II consta de 18 cunas y atiende a todos aquellos neonatos con antecedentes patológicos perinatales infecciosos o no y pacientes referidos de otros centros de salud.

1. Descripción del brote

El 20 de octubre de 2008 se identificó un caso de sepsis asociada a los cuidados de salud, producida por *S. marcescens* en un neonato hospitalizado en el Servicio de Perinatología II con antecedente materno de infección urinaria en el último mes de embarazo, no tratada. En los días siguientes, entre el 28 de octubre y el 4 de noviembre se identificaron 6 neonatos con sepsis por *S. marcescens*, de los cuales cuatro fallecieron lo que motivó el estudio de un posible brote. El estudio se realizó desde el 20 de octubre al 5 de noviembre de 2008.

2. Estudio microbiológico

En el estudio microbiológico del brote se incluyeron todas las muestras clínicas tomadas a los neonatos hospitalizados durante el período de estudio, así como muestras provenientes de las manos del personal, contenedores de agua de los humidificadores de oxígeno, medicamentos y soluciones parenterales que se estaban administrando a los neonatos. Las muestras procedentes de los fluidoterápicos se tomaron mediante un estudio microbiológico puntual realizado sin previo aviso el 4 de noviembre [9,10].

Todas las cepas de *S. marcescens* se identificaron mediante técnicas convencionales. Posteriormente se les determinó el patrón de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos, utilizando el método

de difusión con discos siguiendo los criterios del Clinical Laboratory Standard Institute [11]. Los antibióticos probados fueron amoxicilina-ácido clavulánico (20/10 µg), ampicilina-sulbactam (10/10 µg), piperacilina-tazobactam (100/10 µg), cefalotina (30 µg), cefepima (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftazidima (30 µg), cefoperazona (75 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), aztreonam (30 µg), gentamicina (10 µg), ampicilina (30 µg) y ciprofloxacina (5 µg). A todos los aislados se les determinó la producción de BLEE mediante el método de sinergia de doble disco [12].

3. Tipificación molecular de los aislados de *S. marcescens*

Se realizó la tipificación molecular de los aislados mediante la electroforesis de campos pulsantes (ECP).

3.1. Preparación del ADN inmovilizado. Las cepas de *S. marcescens* fueron subcultivadas en agar Mueller-Hinton (BBL®) y se resuspendieron en 50 µl de una solución de NaCl al 0,5% y EDTA al 0,01M pH 8,0, se mezclaron con 150 µl de agarosa de bajo punto de fusión al 1,5%, fundida y atemperada a 45 °C. Con esta mezcla se prepararon minibloques de 3 mm x 3 mm x 0,7 mm (largo, ancho y grosor) utilizando un molde. La concentración final de células bacterianas en cada minibloque fue de 2,1 x 10⁹ células/ml aproximadamente. Posteriormente, las células inmovilizadas fueron sometidas a un proceso de lisis y desproteinización, en una solución que contenía Tris al 0,01M; EDTA al 0,1M; sarcosyl al 1%; nonident P40 al 1% y urea al 4M pH 9,5 y se incubaron por 2 horas a 43 °C, luego se eliminó esta solución, se lavaron con agua destilada y con una solución Tris-HCl al 0,01M y EDTA al 0,1M pH 8, donde se conservaron a 4°C hasta el momento de la digestión.

3.2. Digestión del ADN inmovilizado con enzimas de restricción. Un minibloque de cada aislado fue sometido a la acción de la enzima *Xba*I (Sigma®) (1 µl) en 100 µl del tampón de digestión SH 1X y se incubó durante 2 horas a 37°C [13].

3.3. Separación de los fragmentos de macrorrestricción del ADN de *S. marcescens*. La electroforesis se realizó en la cámara minichief del equipo Guefast-06® (NEURONIC, S.A) en un campo eléctrico de 10 V/cm durante 5 horas, 10 minutos. Posteriormente, el gel fue teñido con bromuro de etidio (Sigma-Aldrich®), se visualizó en un transiluminador UV y se fotografió con una cámara digital PowerShot A700 (Canon®). Los perfiles de bandas obtenidos fueron comparados por inspección visual, acorde a los criterios de Tenover et al [14].

RESULTADOS

Características del brote

El período epidémico fue de 17 días, del 20 de octubre al 5 de noviembre del 2008. Durante este periodo se diagnosticaron 7 neonatos con sepsis por *S. marcescens* de 29 que permanecieron al menos 72 horas hospitalizados en el Servicio de Perinatología II, de los cuales, 4 fallecieron. Al revisar los registros del Laboratorio de Microbiología, así como los del Servicio de Perinatología II, no se identificó ningún caso de infección por *S. marcescens* en los 12 meses previos al período epidémico, lo que lo que sugirió que la infección tenía carácter de brote probablemente asociado con los cuidados de salud (Tabla 1).

TABLA 1
Características de los neonatos con sepsis por *S. marcescens*

Caso	Identificación de los casos	sexo	Peso al nacer (gr)	Edad gestacional (semanas)	Nutrición parenteral total	Patologías asociadas
1 ^a	20/10/2008	M	3100	40	No	Ninguna
2	28/10/2008	M	3800	39	Si	Ninguna
3	31/10/2008	M	3400	30	Si	Ninguna
4	31/10/2008	M	1400	30	Si	Ninguna
5	31/10/2008	F	3700	38	Si	Malformaciones múltiples
6	31/10/2008	M	1000	27	Si	Ninguna
7	04/11/2008	F	3400	39	Si	Malformaciones múltiples

^aCaso índice

Estudio microbiológico

El día 31 de octubre se tomó muestras para hemocultivo a 7 neonatos hospitalizados con clínica de sepsis, lográndose aislar *S. marcescens* en 4 de ellos. El día 4 de noviembre se logró identificar un nuevo paciente infectado (Tabla 1). A todos los aislados de *S. marcescens* se les determinó su perfil de susceptibilidad y se encontró que la mayoría de los neonatos fueron infectados por cepas productoras de BLEE con resistencia asociada a la gentamicina, sensibles a los carbapenemos, piperacilina/tazobactam, ampicilina y a la ciprofloxacina. Sin embargo, en un neonato se aislaron 2 cepas de *S. marcescens* en el mismo hemocultivo, una productora de BLEE y resistencia a la gentamicina y otra sin producción de BLEE. Así mismo, el último neonato involucrado presentó infección por una cepa sin este mecanismo de resistencia (Fig. 1). Los aislados no productores de BLEE fueron resistentes sólo a amoxicilina/ácido clavulánico y a ampicilina/sulbactam.

Al estudiar la distribución temporal de los aislamientos, se observó que el caso índice se

identificó el 20 de octubre y progresivamente fueron surgiendo nuevos casos (Fig. 1). En la misma figura puede observarse que casi todos los casos de infección fueron producidos por *S. marcescens* productora de BLEE con resistencia asociada a la gentamicina, excepto en los 2 últimos pacientes donde se encontraron cepas no productoras de BLEE.

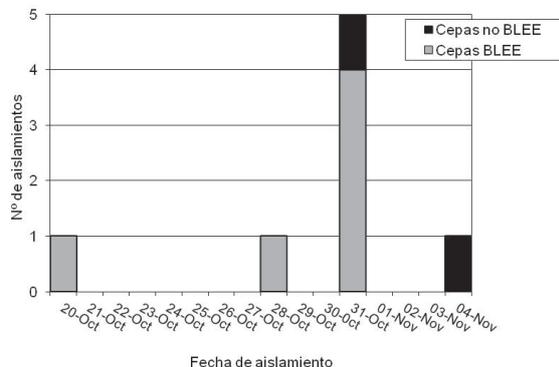


Fig. 1. Distribución temporal de los aislamientos de *S. marcescens* a partir de hemocultivos según fenotipo de resistencia

El 4 de noviembre se realizó una investigación microbiológica de todos los medicamentos en uso en el Servicio de Perinatología II, así como de los contenedores de agua de los humidificadores de oxígeno y de las soluciones parenterales que se estaban administrando a los neonatos en ese momento. Se tomaron 24 muestras, de las cuales en 9 (37,5%) se aislaron cepas de *S. marcescens* productoras y no productoras de BLEE que presentaron el mismo perfil de susceptibilidad de los aislados obtenidos de los pacientes (Tabla 2). Durante el muestreo de los medicamentos y soluciones parenterales en uso se observó que varios de los frascos multidosis estudiados (como el sulfato de magnesio y el cloruro de potasio) presentaban deterioro de sus tapones de goma debido a las múltiples punciones realizadas. Por otra parte, medicamentos en ampollas monodosis, de los cuales se usó sólo una fracción de su contenido, permanecieron abiertos para ser utilizados con otros pacientes. Así mismo, se encontró que los frascos de las soluciones de lípidos y de aminoácidos, constituyentes principales de la NPT, tenían más de una semana en uso, de los cuales se extraían pequeñas cantidades para ser administrados por vía endovenosa a los neonatos y el resto era almacenado en el refrigerador del servicio. Ese mismo día se realizó el estudio microbiológico de las manos del personal, sin que se lograra aislar cepas de *S. marcescens*.

TABLA 2
Medicamentos y soluciones parenterales contaminadas con *S. marcescens*.

Medicamento/solución parenteral	Microorganismo aislado	Fenotipo de resistencia	
		Producción de BLEE ^a	Resistencia a gentamicina
Sulfato de magnesio	<i>Serratia marcescens</i>	+	+
Solución de aminoácidos ^b	<i>Serratia marcescens</i>	+	+
Solución de lípidos ^b	<i>Serratia marcescens</i>	+	+
Cloruro de potasio al 7,5%	<i>Serratia marcescens</i>	+	+
Dextrosa al 5%	<i>Serratia marcescens</i>	+	+
Dextrosa al 10%	<i>Serratia marcescens</i>	-	-
Nutrición parenteral total del caso 4	<i>Serratia marcescens</i>	+	+
Nutrición parenteral total del caso 5	<i>Serratia marcescens</i>	-	-
Nutrición parenteral total del caso 6	<i>Serratia marcescens</i>	+	+
	<i>Serratia marcescens</i>	-	-

^aBLEE: β-lactamasas de espectro expandido. ^bConstituyentes principales de la nutrición parenteral total.

Tipificación molecular de los aislados de *S. marcescens*

Se seleccionaron 7 cepas de *S. marcescens* provenientes de pacientes (2 productoras de BLEE y 1 no productora), frascos multidosis (1 productora de BLEE y 1 no productora) y NPT (1 productora de BLEE y 1 no productora). Los patrones de bandas obtenidos resultaron indistinguibles entre sí, independientemente del tipo de muestra a partir de la cual fueron obtenidos los aislados, así como de la presencia o no de BLEE y de otros marcadores de resistencia (Figura 2).

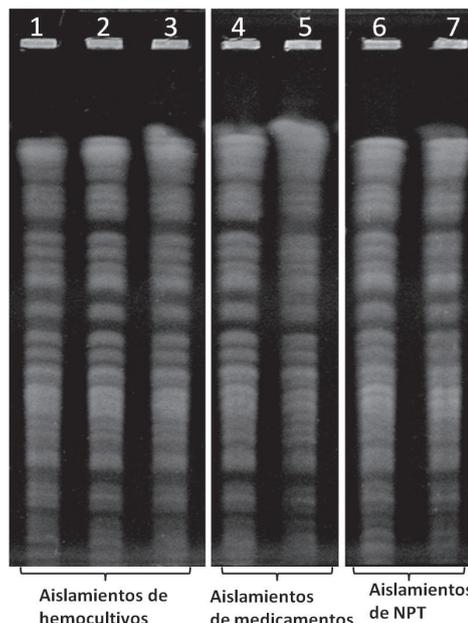


Fig. 2. Gel de agarosa de la electroforesis de campos pulsantes de cepas de *S. marcescens*. Carriles 1, 2, 4, 6, aislamientos productores de BLEE. Carriles 3, 5, 7 aislamientos no productores de BLEE

DISCUSIÓN

En los últimos años se ha incrementado el número de reportes de infecciones asociadas a los cuidados de salud por *S. marcescens* en las unidades neonatales. Esta bacteria es considerada como un patógeno oportunista que causa brotes de diseminación rápida y de difícil control asociados a una elevada morbilidad y mortalidad [8,15-19].

Muchos autores coinciden en señalar que los neonatos infectados y/o colonizados son el principal reservorio de *S. marcescens* [6,7,8]. Este brote se inició con un caso aislado de sepsis por *S. marcescens* en un neonato con antecedente de infección urinaria materna no tratada y 8 días después comenzaron a parecer nuevos casos, esto sugiere que inicialmente no hubo un reservorio ambiental y que la transmisión del microorganismo y la contaminación de los medicamentos y soluciones se realizó a través de las manos del personal, las cuales constituyeron el vehículo de transmisión de los microorganismos causantes de las infecciones hospitalarias [7,19-23].

En este brote de infección hospitalaria, los medicamentos en frascos multidosis (MFM) y medicamentos mal utilizados, con los cuales se prepararon las NPT, sirvieron como una fuente común de infección para todos los pacientes involucrados. Este hallazgo fue confirmado al comparar desde el punto de vista fenotípico y genotípico a los microorganismos aislados de los hemocultivos, de los medicamentos en frascos monodosis y multidosis, así como de la NPT que se estaba administrando. Es importante destacar que el brote se controló al desechar los frascos y medicamentos contaminados, así como al tratar oportunamente a los neonatos infectados de acuerdo a los resultados de las pruebas de susceptibilidad.

Los MFM y las soluciones parenterales pueden contaminarse durante su manipulación, en especial cuando se preparan mezclas, debido a las múltiples punciones con agujas y a los errores cometidos en los procedimientos para el manejo aséptico y adecuado por el personal responsable de prepararlas, como el uso de una misma jeringa y aguja para sacar medicamentos de diferentes frascos [7,21,22,24,25]. Durante la realización de este estudio se observó que MFM que estaban en uso, poseían tapones deteriorados y los medicamentos en ampollas monodosis permanecieron abiertos, pudiendo contaminarse fácilmente con microorganismos provenientes del ambiente o de las manos del personal. Así mismo, se pudo apreciar que las soluciones de lípidos y de aminoácidos, constituyentes principales de la NPT, fueron reutilizadas durante más de una semana. Las normas de uso de estos dos

suplementos alimenticios indican que la NPT debe ser utilizada en una sola dosis, la mezcla restante o sus componentes (lípidos y aminoácidos principalmente) no pueden ser almacenados para posterior reutilización porque se contaminan fácilmente [17]. La falta de higiene de las manos, la ausencia del uso de guantes y una mala práctica en el manejo de los medicamentos, pueden ocasionar la contaminación de todos los fármacos presentes en un servicio. Esto, aparentemente explicaría la gran cantidad de MFM y soluciones parenterales contaminadas por *S. marcescens*.

La mayoría de los reportes de brotes de infección por *S. marcescens* fallan en identificar la fuente de infección [16,18,20,26] y sólo unos pocos evalúan microbiológicamente las soluciones parenterales y los frascos de medicamentos mono y multidosis en uso [6,15,17,18,21]. Es posible que, debido a esta omisión en el estudio de los brotes, no se logre encontrar la fuente de infección. En la literatura consultada sólo existen dos reportes de un brote de infección hospitalaria por *S. marcescens* debida a la administración de NPT contaminada, uno en pacientes adultos [21] y otro en neonatos [17], ambos en Europa. Esta investigación constituye el primer reporte latinoamericano de un brote de infección hospitalaria por *S. marcescens* en neonatos debida a la administración de NPT contaminada.

Este brote de infección asociado a los cuidados de salud fue producido por una cepa (un genotipo) de *S. marcescens* que presentó dos perfiles de susceptibilidad distintos, uno de ellos asociado a la producción de enzimas plasmídicas. Esto ha sido reportado por otros autores [18,23,27], sin embargo, en otros casos se ha encontrado un origen policlonal de los aislados con antibiogramas diferentes [19] y brotes producidos por un único microorganismo con antibiograma similar [17], lo que revela que los estudios de susceptibilidad *in vitro* no proveen la suficiente información para establecer la relación clonal de los aislados involucrados en un brote, de allí la importancia de contar con técnicas de tipificación molecular como las aplicadas en este estudio.

CONCLUSIONES

En conclusión, el brote de infección por *S. marcescens* se inició cuando un neonato con antecedente materno de infección urinaria en el último mes de embarazo, no tratada, fue hospitalizado en el Servicio de Perinatología II y se extendió a otros neonatos por la administración de NPT contaminada debido al mal manejo de los MFM, de las soluciones parenterales y de los componentes

de la NPT por parte del personal responsable. Los MFM y las soluciones parenterales constituyen una fuente importante de infección hospitalaria que no debe ser olvidada en las investigaciones de brotes. Este es el primer reporte latinoamericano de un brote de infección hospitalaria en neonatos producido por *S. marcescens* asociado con la administración de NPT contaminada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Brady M. Health care-associated infections in the neonatal intensive care unit. *Am J Infect Control*. 2005; 33: 268-275.

[2] Zingg W, Posfay-Barbeb KM, Pittet D. Healthcare-associated infections in neonates. *Curr Opin Infect Dis*. 2008; 21: 228-234.

[3] Gastmeier P, Loui A, Stamm-Balderjahn S, Hansen S, Zuschneid I, Sohr D, et al. Outbreaks in neonatal intensive care units-They are not like others. *Am J Infect Control*. 2007; 35: 172-176.

[4] Lanari M, Lazzarotto T, Pignatelli S, Guerra B, Serra L. Epidemiology of neonatal infections. *J Chemother*. 2007; 19(Supp 2): 20-23.

[5] Villari P, Crispino M, Salvadori A, Scarcella A. Molecular epidemiology of an outbreak of *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2001; 22: 630-634.

[6] Fleisch F, Zimmermann-Baer U, Zbinden R, Bischoff G, Arlettaz R, Waldvogel K, et al. Three consecutive outbreaks of *Serratia marcescens* in a Neonatal Intensive Care Unit. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 767-773.

[7] Voels A, Müller A, Gillen J, Le C, Dresbach T, Engelhart et al. Outbreaks of *Serratia marcescens* in neonatal and pediatric intensive care units: Clinical aspects, risk factors and management. *Int J Hyg Environ Health*. 2010; 213: 79-87.

[8] Mahlen S. *Serratia* infections: from military experiments to current practice. *Clin Microbiol Rev*. 2011; 24: 755-791.

[9] Macías A, Muñoz J, Herrera L, Medina H, Hernández I, Alcanzar D. et al. Nosocomial pediatric bacteremia: The role of intravenous set contamination in developing countries. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004; 25: 226-230.

[10] Marshal, R. Standart methods for the examination of dairy products. Washington: Am Pub Health Assoc; 1992. p 402-407.

[11] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. Document M100-S18. Pensilvania,

USA; 2008.

[12] Pitout J, Reisbig M, Venter E, Church D, Hanson N. Modification of the double-disk test detection of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum and AmpC β -lactamases. *J Clin Microbiol*. 2003; 41: 3933-3935.

[13] Garrido Y. Procedimientos normalizados de operaciones para subtipar cepas de *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. La Habana: Editorial Universitaria; 2010. Disponible en URL: <http://200.44.49.100/Documentacion/manuales/Folleto%20Armonizaciones%202010.pdf>

[14] Tenover F, Arbeit R, Goering R, Mickelsen P, Murray B, Persing D, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*. 1995; 33: 2233-2239.

[15] Romano-Mazotti L, Murguía P, Pérez R, Santos P, Alcántar C, Alpuche A. Brote de bacteriemia nosocomial y colonización por *Serratia marcescens* en una unidad de cuidado intensivo neonatal. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2007; 64: 9-15

[16] Guler E, Davutoglu M, Ucmak H, Karabiber H, Kokoglu O. An outbreak of *Serratia marcescens* septicemia in neonatos. *Indian Pediatrics*. 2009; 46: 61-63.

[17] Arslan U, Erayman I, Kirdar S, Yuksekkaya S, Cimen O, Tuncer I et al. *Serratia marcescens* sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Int*. 2010; 52: 208-212.

[18] Batista K, Corrêa R, Souza I, de Sousa J, de Oliveira C, Brito E, et al. Outbreak of neonatal infection by an endemic clone of *Serratia marcescens*. *Rev Soc Bras Med Trop*; 2011; 44: 106-109.

[19] Bayramoglu G, Buruk K, Dinc U, Mutlu M, Yilmaz G, Aslan Y. Investigation of an outbreak of *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit. *J Microbiol Immunol Infec*. 2011; 44: 111-115.

[20] Rabier V, Bataillon S, Jolivet-Gougeon A, Chaplain J, Beuchee A, Betremieux P. Hand washing soap as a source of neonatal *Serratia marcescens* outbreak *Acta Pædiatrica/Acta Pædiatrica*. 2008; 97: 1381-1385.

[21] Pan A, Dolcetti L, Barosi C, Catenazzi P, Ceruti T, Ferrari L, et al. An outbreak of *Serratia marcescens* bloodstream infections associated with misuse of drug vials in a surgical ward. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006; 27: 79-82.

[22] de Vries J, Baas W, van der Ploeg K, Heesink A, Degener J, Arends J. Outbreak of *Serratia marcescens* colonization and infection traced to a healthcare worker with long-term carriage on the hands. *Infect Control*

Hosp Epidemiol. 2006; 27: 1153-1158.

[23] Milisavljevic V, Wu F, Larson E, Rubenstein D, Ross B, Drusin LM, et al. Molecular epidemiology of *Serratia marcescens* outbreaks in two neonatal intensive care units. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004; 25: 719-721.

[24] Paparella S. The risks associated with the use of multidose vials. J Emerg Nurs. 2006; 32: 428-430.

[25] Nogler-Semenitz E, Lass-Flörl C, Nogler M, Speer G, Dierich MP. Bacterial contamination of solutions for parenteral administration for single-and

multiple-dose vials after multiple use in the hospital. Wien Med Wochenschr. 2007; 157: 398-401.

[26] Al Jarousha A, El Qouqa L, El Jadea A, Al Afifi A. An outbreak of *Serratia marcescens* septicaemia in neonatal intensive care unit in Gaza City, Palestine. J Hosp Infect. 2008; 70: 119-126.

[27] Maragakis L, Winkler A, Tucker M, Cosgrove S, Ross T, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Serratia marcescens* infection in a neonatal intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008; 29: 418-423.