

Estudio microbiológico de los *Staphylococcus* coagulasa negativos productores de biocapa mucoide ("slime")

Salim Mattar¹, Milena Cuevas¹, Olga Aldana¹, Otto Sussman², Ignacio Arango³

Resumen

Se estudió la producción de "slime" por *Staphylococci* Coagulasa Negativos (SCN) productores de infecciones asociadas a catéteres, y la actividad de la oxacilina sobre cepas "slime" positivas y "slime" negativas. Se incluyeron 60 cepas obtenidas a partir de catéteres de pacientes hospitalizados. La producción de "slime" se estudió por el método clásico en tubo, que permite la formación de una película "biofilm" sobre las paredes de los mismos, lo cual se considera como "slime" positivo. Para comprobar los aislados "slime" positivos se realizó paralelamente el método en agar sangre adicionado con sacarosa al 50% y rojo congo al 0.8%. Para determinar la susceptibilidad a los antibióticos se escogieron 32 cepas y se realizó utilizando un método automatizado (MicroScan[®]). Adicionalmente se midieron las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) y las Concentraciones Mínimas Bactericidas (CMB) de la oxacilina en los SCN "slime" positivos y "slime" negativos, por el método de Sheth et al (12), el cual incluye segmentos de catéter en los tubos de las diluciones seriadas del antibiótico. De las 60 cepas 33 (55%) resultaron "slime" positivas con el método del tubo, y 7 (11.7%) fueron variables. Con la prueba del agar Rojo Congo 27 cepas (45%) presentaron colonias negras ("slime" positivo). Dos cepas fueron sensibles a la mayoría de antibióticos, las restantes sólo lo fueron a rifampicina, ciprofloxacina, vancomicina y tetraciclina. Las CMI y las CMB a la oxacilina fueron significativamente más altas en los SCN productores de "slime". El estudio permite concluir que los métodos de detección del tubo y del agar Rojo Congo son útiles en la determinación de SCN productores de "slime". El trabajo también estableció que existe una alta frecuencia (55%) de SCN productores de "slime" en pacientes con catéteres, y que la resistencia a los antimicrobianos es evidentemente mayor en los SCN productores de "slime".

1. Unidad de Microbiología Especial, Facultad de Ciencias. Universidad Javeriana

2. Unidad de Microbiología, Instituto Nacional de Cancerología.

3. Fundación Cardioinfantil.

En los últimos años los Staphylococci Coagulasa Negativos (SCN) han surgido como importantes agentes etiológicos de una gran variedad de infecciones en individuos sanos y especialmente inmunodeprimidos. Entre los SCN más conocidos están *S. saprophyticus* y *S. epidermidis*. Los SCN forman parte de la flora normal de la piel y las membranas mucosas, sin embargo, cuando por trauma o por implantación directa de cuerpos extraños el sistema orgánico cutáneo se ve lesionado, dichos microorganismos pueden entrar al cuerpo, dependiendo de su habilidad para adherirse, evadir el sistema inmune, multiplicarse, y producir daño al huésped.

S. saprophyticus es un patógeno productor de infecciones urinarias en mujeres. Por el contrario, *S. epidermidis* se comporta como un patógeno oportunista, asociado a infecciones relacionadas con la presencia de cuerpos extraños (1, 2), como catéteres de diálisis peritoneal, válvulas cardíacas, marcapasos, y en especial, catéteres ventriculares e intravasculares (3, 4).

La adherencia bacteriana constituye el paso previo al desarrollo de una infección. La adherencia en sus primeros estadios esta mediada por interacciones físico-químicas, destacándose entre ellas las interacciones hidrofóbicas (3). En 1972, Bayston y Penny (5) observaron la producción de una sustancia de naturaleza mucoide por algunas cepas de *S. epidermidis*, causantes de infecciones en pacientes con derivaciones de líquido cefalorraquídeo. Más tarde, Peter et al (6) observaron que los catéteres infectados por este microorganismo estaban recubiertos por un material denso, mucoide, en el que se encontraban suspendidas las bacterias. Dicho material se conoció posteriormente con el nombre de "slime" (limo), que es una sustancia de naturaleza polisacárida que aún no es perfectamente conocida.

La capacidad de algunas cepas de SNC para producir "slime" ha sido considerada por algunos autores como índice de virulencia, y sirve para diferenciarla de aquellas cepas contaminantes (4, 7, 8).

En modelos experimentales en animales se ha demostrado que el "slime" interfiere con los mecanismos de defensa del huésped, inhibiendo la

blastogénesis de linfocitos B y T, la formación de anticuerpos, y la mayoría de las funciones fagocíticas y bactericidas de los leucocitos PMN (4, 9). Por otro lado, la presencia de "slime" aumenta la capacidad de adherencia de los SCN e interfiere con la actividad de antimicrobianos. Esto último ha sido asociado a la falta de permeabilidad, a un secuestro del antimicrobiano en la complicada malla de la biocapa en la que se organizan las bacterias al terminar el proceso de adherencia, y a la ausencia del microorganismo en la circulación al mantenerse suspendido en dicha estructura. (10).

El objetivo de esta investigación fue el de determinar la producción de "slime" en cepas de Staphylococci Coagulasa Negativos aisladas a partir de catéteres y medir las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) y las Concentraciones Mínimas Bactericidas (CMB) a la oxacilina.

Materiales y métodos

Cepas bacterianas

Se estudiaron 60 cepas de Staphylococci Coagulasa Negativos aisladas de catéteres intravasculares. La identificación de los SCN se realizó siguiendo protocolos convencionales previamente establecidos (11). Una vez identificadas las cepas se mantuvieron congeladas en alícuotas de leche descremada, 30% p/v, a -70°C hasta el momento de su utilización.

Determinación de la producción de "slime"

♦ Macrométodo en tubo

La producción de "slime" en tubo se realizó según el método descrito por Christensen et al (12). Las cepas se inocularon en tubos tapa rosca de vidrio (13 x 100 mi) que contenían 10 mi de caldo tripticasa de soya (Oxoid, Basingstoke U.K.) y se incubaron durante 24 horas a 37°C. Después de dicho tiempo se vació el contenido de los tubos suavemente y se tiñeron con una solución acuosa de Safranina al 0.1% durante 30 segundos. La producción de "slime" se determinó por la formación o no de una película (biofilm) en las paredes del tubo y dicha observación se dividió en cuatro categorías (+, ++, +++, -) de acuerdo a la capacidad de formación de la biocapa.

❖ Método del agar Rojo Congo

Se realizó la técnica descrita por Freeman et al (13). Se aislaron los SCN en un agar sangre base suplementado con rojo congo (0.8 g/L) y sacrosa (50 g/L). Después de 24 horas de incubación a 37°C, se identificaron los microorganismos productores de "slime" por la presencia de colonias negras, cristalinas y de consistencia seca. Los no productores de "siime" se reconocieron por la presencia de colonias rosadas o rojas sin consistencia seca ni cristalina.

Susceptibilidad antibacteriana

Se evaluó la susceptibilidad de 32 cepas (20 *S. epidermidis*, 10 *S. haemolyticus* y 2 *S. hominis*) "slime" positivas y negativas a varios antimicrobianos con actividad antiestafilocócica por el método de MicroScan (Baxter, Sacramento, CA, USA) utilizando un panel que contenía amoxicilina, ampicilina, cefazolin, cefalotina, ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, gentamicina, imipenem, oxacilina, penicilina, rifampicina, tetraciclina, trimetoprim sulfametoxazol y vancomicina.

Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias

Se llevó a cabo una modificación del macrométodo en tubo descrita por Sheth et al (14). Se seleccionaron 20 cepas de *S. epidermidis* (10 "slime" positivas y 10 "slime" negativas), 10 cepas de *S. haemolyticus* (5 "slime" positivas y 5 "slime" negativas) y 2 cepas de *S. hominis* (una "slime" positiva y una "slime" negativa). Segmentos de 5 mm de catéter Swan-Ganz Vip se incubaron durante 24 horas a 37°C en soluciones de 10 UFC/ml de cada una de las cepas. Después de éste tiempo los segmentos se sacaron cuidadosamente y se sumergieron nuevamente en tubos separados que contenían diluciones seriadas (0.25-1400 mg/ml) de oxacilina (Bristol-Myers Squibb de Colombia S.A.), se incubaron por 18 horas a 37°C y se examinaron visualmente. La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) fue la dilución más baja que inhibió el crecimiento visible.

Determinación de las concentraciones mínimas bactericidas

Se realizó la metodología descrita por Sheth et al (14). Una vez obtenidas las MIC y a partir de

todos los tubos que no presentaron crecimiento visible, se tomaron alícuotas de 0.005 ml y se realizaron siembras masivas en agar sangre, se incubaron a 37°C durante 18 horas, y se determinó la concentración mínima bactericida, definida como la concentración más baja del antibiótico que mostraba la muerte del microorganismo en un 99.5%.

Resultados

De las 60 cepas estudiadas 45 fueron *S. epidermidis*, 12 *S. haemolyticus*, 2 *S. hominis* y una de *S. warneri* (Tabla 1), 33 cepas (55%) presentaron producción de "slime" con el macrométodo en tubo de Christensen et al (7) (Figura 1). Siete cepas (11.7%) mostraron variabilidad en su producción de "slime" (Tabla 2).

Con el método del agar Rojo Congo de Freeman et al (13) el porcentaje de cepas positivas no fue tan alto (45%) (Tabla 2).

Los resultados de la susceptibilidad de las 32 cepas de SCN se observan en la Tabla 3. Sólo dos cepas (una productora de "slime" y otra no productora) fueron sensibles a todos los antibióticos~excepto a tetraciclina. La mayoría de cepas presentaron resistencia a casi todos los

TABLA 1

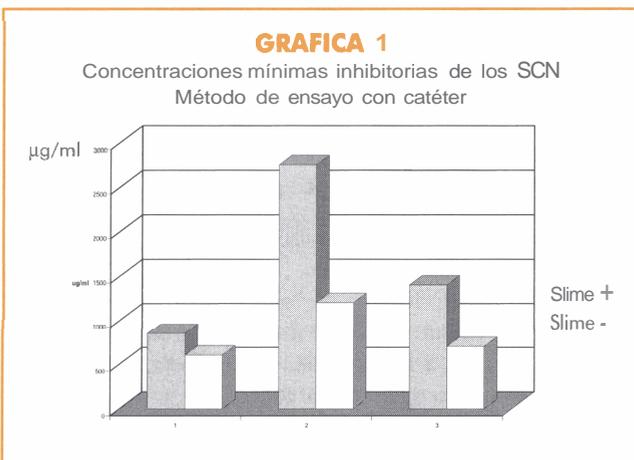
Cepas de SCN obtenidas a partir de catéteres intravasculares

SCN	NUMERO	%
<i>S. epidermidis</i>	45	75
<i>S. haemolyticus</i>	12	20
<i>S. hominis</i>	2	3.3
<i>S. warneri</i>	1	1.7

TABLA 2

Producción de "slime" en tubo y en agar Rojo Congo

No. de CEPAS	%	PRODUCCION DE "SLIME" EN TUBO	CEPAS POSITIVAS EN AGAR ROJO CONGO	%
10	16.7	+++	10	16.7
10	16.7	++	10	16.7
13	21.6	+	7	11.7
7	11.7	+/-	1	1.7
20	33.3	-	-	-



antibióticos, entre ellos ampicilina, cefazolina, cefotaxima, imipenem, oxacilina, penicilina, eritromicina y clindamicina, mientras que con rifampicina y vancomicina, la sensibilidad aumentó notablemente. La sensibilidad a ciprofloxacina y a tetraciclina fue intermedia, ya que se presentaron un número equivalente de cepas resistentes y de cepas sensibles.

Las CMI y CMB de la oxacilina detectada en las mismas cepas de SCN adheridas al catéter se muestran en las Tabla 4 y Gráfica 1. En ausencia de catéter, las CMI y las CMB tanto de los "slime" positivos como de los "slime" negativos, no variaron significativamente (Tabla 4).

En presencia del catéter, las CMI y las CMB son más altas para los SCN productores de "slime". Para los SCN "slime" positivos las CMI son ligeramente más altas en presencia del catéter que en su ausencia, y para los "slime" negati-

vos las diferencias existentes entre las CMI de los controles y la pruebas con catéter no son significativas, mientras que las CMB son un poco más altas en presencia del biomaterial.

Staphylococcus epidermidis productores de "slime" en los ensayos con catéter muestran medias aritméticas más altas, tanto en las CMI como las CMB, al igual que las dos cepas de *Staphylococcus hominis*. *Staphylococcus haemolyticus* "slime" positivos y negativos no mostraron diferencias en las CMI y las CMB (Tabla 4).

Discusión

La producción de "slime" por cepas de SCN ha sido valorada como un importante índice de patogenicidad bacteriana; ya que las infecciones causadas por ellos ocurren en los dispositivos biomédicos usados en los pacientes. Algunos autores han observado que las cepas que ocasionan infecciones producen "slime" en mayor cantidad que aquellas que son contaminantes, y que incluso esta propiedad podría emplearse para discernir entre ambas posibilidades, ante un aislamiento de SCN en muestras clínicas (15, 16, 17).

Se han empleado diferentes metodologías para medir la producción de "slime". Hussain et al (18) notaron que en un medio líquido constituido por glucosa, 18 aminoácidos, 2 purinas y 6 vitaminas, el crecimiento y producción de "slime" por parte de los SCN era rápido y abundante. En la actualidad las técnicas más utilizadas son el macrométodo en tubo y el micrométodo en placa de microtitulación inicialmente descrito por Christensen et al (12), y empleado con diversas modificaciones por otros autores (17, 19).

Nosotros evaluamos 60 cepas de SCN con el macrométodo en tubo y pudimos observar que dicha metodología presenta subjetividad en la lectura e interpretación de sus resultados, por lo cual es necesaria la valoración en por lo menos cuatro oportunidades. Sin embargo, se encontró que empleando el macrométodo un porcentaje alto (51.7%) de cepas aisladas a partir de catéteres son productoras de "slime", lo cual permitió corroborar la asociación de dicha característica con la adherencia bacteriana y con la patogénesis de la infección asociada a dispositivos médicos causada por SCN. También se com-

TABLA 3

Susceptibilidad antimicrobiana de 32 cepas de SCN aisladas de catéteres* (Método MicroScan)

CEPAS	AMO	AMP	CEF	CEPH	CIPR	CLIN	ERIT	GENT	IMIP	OXA	PEN	RIF	TETRA	TMP-5	VAN
	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S	R S
<i>S. epidermidis</i>															
Slirne +	9 1	10 0	7 3	10 0	6 4	7 3	7 3	8 2	9 1	9 1	10 0	3 7	5 5	3 7	0 10
Slirne -	7 3	9 1	8 2	8 2	6 4	6 4	8 2	5 5	8 2	6 4	10 0	2 8	5 5	3 7	0 10
<i>S. haemolyticus</i>															
Slirne +	5 0	5 0	5 0	4 1	4 1	5 0	5 0	5 0	5 0	5 0	5 0	0 5	5 0	5 0	0 5
Slirne -	4 1	5 0	5 0	5 0	5 0	4 1	4 1	5 0	5 0	5 0	5 0	0 5	5 0	4 0	0 5
<i>S. hominis</i>															
Slirne +	0 1	1 0	1 0	1 0	0 1	1 0	1 0	1 0	1 0	1 0	1 0	0 1	0 1	1 0	0 1
Slirne -	1 0	1 0	1 0	0 1	0 1	1 0	1 0	1 0	1 0	1 0	1 0	0 1	1 0	1 0	0 1

* Se expresa el número de cepas resistentes o sensibles. Amox (amoxicilina: S \leq 4/2 mg/ml; R $>$ 4/2 mg/ml); Amp (Ampicilina: R, productores de B-lactamasa); Cef (cefazolin: S \leq 2 mg/ml; R \geq 4 mg/ml); Ceph (cefalotina: S \leq 8 mg/ml; R \geq 8 mg/ml); Cipr (ciprofloxacina: S \leq 1 mg/ml; R \geq 2 mg/ml); Clin (clindamicina: S \leq 0.5 mg/ml; R $>$ 2 mg/ml); Erit (Eritromicina: S \leq 0.5 mg/ml; R \geq 4 mg/ml); Gent (Geentamicina: S $<$ 1 mg/ml; R $>$ 6 mg/ml); Impi (Imipenem: S $<$ 4 mg/ml; R $>$ 4 mg/ml); Oxa (oxacilina: S $<$ 0.05 mg/ml); Pen (Penicilina: R, 0.3-8 mg/ml, productores de b-lactamasa); Rif (Rifampicina: S $<$ 1 mg/ml; R $>$ 2 mg/ml); Tetra (teracilina: S $<$ 2 mg/ml; R $>$ 8 mg/ml); Tmp-Smx (Trimetropim-sulfometoxa \blacksquare 2/38 mg/ml, R \geq 4/76 mg/ml); Van (Vancomicina: S \leq 14 mg/ml; R \geq 32 mg/ml).

probó que la producción de "slime" es independiente de la especie; ya que no sólo *S. epidermidis* lo produce, sino que además *S. haemolyticus*, *S. hominis* y otras especies también lo hacen (20, 21).

La variabilidad en la producción de "slime" por parte de algunas cepas fue algo que también se hizo evidente en nuestro trabajo. Las cepas pasaban de ser "slime" positivas a negativas o viceversa, entre una determinación y la siguiente; siete cepas (11.7%) presentaron esta característica, y se pudo notar que dicho fenómeno puede deberse a cambios en las condiciones del medio en el cual se están desarrollando los microorganismos o por pases sucesivos sobre las placas de agar. Esto se corroboró con lo expuesto en otros estudios en que los SCN presentaron variaciones fenotípicas en la producción de "slime" tanto *in vivo* como *in vitro* (21, 22, 23). Dichas variaciones son consideradas como un grupo de mecanismos genéticos en los cuales la expresión de un gen, en este caso la expresión del "slime", varía de manera reversible de generación en generación con una frecuencia relativamente alta (23). Cuando la célula confronta un nuevo ambiente, un cambio en sus características va acompañado con la supervivencia de la célula cambiante. Los estudios también sugieren que las variaciones morfológicas de las colonias no son siempre contaminaciones, y puede cometerse un error en la identificación cuan-

do en realidad son la expresión de variantes fenotípicas del mismo microorganismo (23). Todas estas observaciones pueden cambiar la idea que se tienen de la patogénesis y virulencia de los SCN, pero aún así no se puede descartar la posibilidad de que la producción de "slime", la morfología y la virulencia sean fenómenos totalmente independientes (21, 23).

De manera paralela al macrométodo del tubo, nosotros ensayamos el método de Freeman et al (13), que se basa en el uso de un medio de agar sangre enriquecido con sacarosa al 50%, para detectar la producción de glucanos, y con rojo congo para mostrar la presencia de exopolisacáridos (13). No se conoce con exactitud el mecanismo de la reacción que se presenta en dicho medio, pero se observó que el cambio de color sólo ocurre después de un período largo de incubación (48 horas), lo cual sugiere que un producto secundario del metabolismo microbiano podría estar involucrado. El porcentaje de cepas (45%) que resultaron positivas con este método no es tan alto como el encontrado con el método de Christensen (12). Posiblemente existen cepas que no producen durante su metabolismo la sustancia necesaria para el cambio de color en el agar Rojo Congo. Las observaciones en tubo son subjetivas, no sólo por las discrepancias que se presentan entre una observación y la siguiente; sino también porque no permite la

TABLA 4

CMI y CMB de los staphylococci coagulasa negativos "slime" positivo y "slime" negativo en presencia de oxacilina

ESPECIE	PRUEBA	"SLIME" POSITIVO		"SLIME" NEGATIVO	
		CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)
S. epidermidis	Con catéter	726	1538	525	1136
	Sin catéter	634	955	520	857
S. haemolyticus	Con catéter	>1400	>1400	1260	>1400
	Sin catéter	> 1400	> 1400	1260	>1400
S. horninis	Con catéter	1400	>1400	700	>1400
	Sin catéter	700	1400	700	1400

cuantificación del "slime". No obstante, el agar Rojo Congo es mucho más fácil de implementar rutinariamente en un laboratorio clínico, especialmente en aquellos hospitales donde existen unidades de cuidados intensivos.

Otro de los aspectos evaluados en este trabajo fue la susceptibilidad que presentan tanto los SCN productores de "slime" como los no productores ante diversos agentes antimicrobianos. El "slime" desempeña un papel importante en la interacción de los antimicrobianos con las biocapas bacterianas: cuando los SCN se encuentran en forma de película en la superficie de un biomaterial, y se encuentran recubiertos por el "slime", la actividad de los antibióticos disminuye de manera importante (4). Las posibles explicaciones incluyen una falta de permeabilidad, un secuestro del antimicrobiano en la complicada malla de la biocapa (biofilm), o una situación metabólica que hace comportar al microorganismo como tolerante al antimicrobiano.

Existen varios trabajos *in vitro* sobre la actividad de los antimicrobianos frente a SCN adheridos a diferentes superficies inertes pero la metodología utilizada en todos es muy diferente. Gristina et al (24), estudió la actividad de la daptomicina, nafcilina, vancomicina y gentamicina sobre *S. epidermidis* adherido a diferentes biomateriales utilizados en ortopedia, encontrando que los valores de CMB en las bacterias adheridas eran superiores a los de las bacterias no adheridas, independientemente de la capacidad del germen para producir "slime", y que estos valores dependían del tipo de biomaterial coloni-

zado. Evans et al (25) diseñaron un modelo dinámico de flujo continuo de vancomicina sobre biocapas de *S. epidermidis* en fragmentos de sílica, y observaron que en estas condiciones el microorganismo se mostraba tolerante a dicho antimicrobiano. Nosotros seguimos la metodología descrita por Sheth et al (14) quienes observaron que la CMB de nafcilina del *S. epidermidis* productor de "slime" adherido a catéteres plásticos era significativamente superior a la obtenida con cepas no productoras de "slime". Sin embargo, las CMI eran las mismas o no variaban significativamente en los "slime" positivos y los "slime" negativos, cuando se empleaba el método convencional de CMI y CMB sin incluir en los tubos de dilución los catéteres. Nuestros datos muestran que para la oxacilina no sólo las CMB fueron más altas en los SCN productores de "slime" sino que también las CMI. Esta metodología es útil, porque se aproxima mejor a lo que ocurre en las infecciones asociadas a catéteres *in vivo*, que a las obtenidas con el antibiograma convencional de Bauer & Kirby, ya que se incluyó el biomaterial como parte de la prueba, mientras que el método habitual no tiene en cuenta este componente. Sin embargo, hay que mencionar que la limitación de este método es que las biocapas bacterianas se forman en un sistema estático, mientras que *in vivo* los catéteres intravasculares están sometidos al flujo del torrente sanguíneo. Nuestros datos indican que la resistencia antimicrobiana a antibióticos como la oxacilina está asociada a la producción de "slime" ya que en aquellos microorganismos productores las CMI y las CMB son

muchos más altas que en los no productores. Por otro lado, es importante considerar que posiblemente otros factores inherentes a la bacteria, a las características del antibiótico o a la naturaleza del biomaterial empleado, pueden estar involucrados en la interacción de los antimicrobianos con biocapas bacteriana en catéteres plásticos. Nosotros consideramos que se deben realizar estudios en modelos biodinámicos que permitan establecer con exactitud el comportamiento de los antibióticos con los *Staphylococci* coagulasa negativos. Mientras esto sucede, el mensaje de este trabajo para los clínicos es claro: los SCN aislados de catéter deben ser cuidadosamente evaluados para establecer una antibioticoterapia más ajustada al estatus del paciente infectado por estos microorganismos.

Agradecimientos

A Bristol-Myers Squibb de Colombia S.A. por donarnos la oxacilina para llevar a cabo las CMI y las CMB. A Quirnel-Oxoid por suministrar-nos el caldo tripticasa de soya. A la Universidad Javeriana por su apoyo institucional.

Referencias bibliográficas

- Christensen, GD, Simpson, A, Younger, JJ, et al. Adherence of Coagulase-Negative *Staphylococci* to plastic tissue culture plates: a quantitative model. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 996-1006.
- Drewry, DT, Lesley, G, Wilkinson, B. Staphylococcal "slime": a cautionary tale. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1292-1296.
- Carbonero, MJ, Pascual, A, Martínez, L, Perea, EJ. Capacidad de adherencia y características de superficie de *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus*. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1989; 7: 20-24.
- Martínez, L, Pascual, A. Producción de "slime" por *Staphylococcus epidermidis*. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1991; 9: 519-521.
- Bayston, R, Rodgers, J. Production of extra-cellular slime by *Staphylococcus epidermidis* during stationary phase of growth its association with adherence to implantable devices. *J Clin Pathol* 1990; 43: 866-870.
- Peters, G, Locci, R, Pulverer, G. Adherence and growth of Coagulase-Negative *Staphylococci* on surfaces of intravenous catheters. *J Infect Dis* 1982; 146: 479-482.
- Christensen, GD, Simpson, W, Bisno, AL. Adherence of Slime producing strains of *S. epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* 1982; 37: 318-326.
- Christensen, GD, Simpson, A, Bisno, AL. Experimental foreign body in mice challenged with "siime" producing *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Immun* 1983; 40: 407-410.
- Johnson, GM, Lee, DA, et al. Interference with granulocyte function by *Staphylococcus epidermidis* "slime" positive. *Infect Immun* 1986; 54: 13-20.
- Naylor, P, Quentin, N, et al. Antibiotic resistance of Biomaterial-Adherent Coagulase Negative and Coagulase-Positive *Staphylococci*. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1990; 261: 126-133.
- Isenberg, H. Identification of commonly isolated aerobic Gram positive bacteria. p. En: Isenberg H. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. American Society for Microbiology. Books Division. Washington D.C. 1993. Vol. 1p. 1.20.1-1.20.12.
- Christensen, GD, Simpson, W, Bisno, AL. Adherence of "siime" producing strains of *S. epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* 1982; 37: 318-326.
- Freeman, DJ, Falkiner, FR, Keane, CT. New method for detecting "slime" production by Coagulase-Negative *Staphylococci*. *J Clin Pathol* 1989; 42: 522-526.
- Sheth, N, Franson, T, Sonhle, P. Influence of bacterial adherence to intravascular catheters on in vitro antibiotic susceptibility. *Lancet* 1985; 1266-1268.
- Christensen, GD, Parisi, J, Bisno, AL, Simpson, WA. Characterization of clinically significant strain of coagulase-negative *Staphylococci*. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 58-269.
- Davenport, D, Massanan, TIM, Pfailer, M, Bale, MJ. Usefulness of a test for "siime" production as a marker for clinically significant infections with coagulase-negative *staphylococci*. *J Infect Dis* 1986; 153: 332-339.
- Sánchez, G, Pascual, A, Martínez, L. Evaluación de dos métodos de estudio de la producción de "siime" por cepas de *Estafilococo Coagulasa Negativo*. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1989; 7: 28-32.
- Martínez, L, Pascual, A, Giglio, G, Perea, EJ. Efecto de concentraciones subinhibitorias de betalactámicos en la producción de "slime", la hidrofobicidad de superficie y la adherencia de *S. epidermidis*. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1991; 9: 543-546.
- Goldmann, DA, Pier, GB. Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6: 176-192.
- Hjelm, E, Lundell, E. "slime" production by *Staphylococcus saprophyticus*. *Infect Immun*. 1991; 59: 445-448.
- Christensen, GD, Baddour, LM, Simpson, A. The role of adherence in the pathogenesis of Coagulase-Negative *Staphylococcal* infections. *Zbl Bakt* 1987; Suppl.16: 103-111.
- Christensen, GD. Phenotypic variation of *Staphylococcus epidermidis* Slime production in vitro and in vivo. *Infect Immun* 1987; 55: 2870-2877.
- Christensen, GD, Baddour, LM, Madison, B, Parisi, SN, et al. Colonial morphology of *Staphylococci* on memphis agar: Phase variation of "slime" production, resistance to β lactam antibiotics, and virulence. *J Infect Dis* 1990; 161: 1153-1169.
- Gristina, AG, Jennings, R, Naylor P, Myrvick, Q. Comparative in vitro antibiotic resistance of surface colonizing coagulase-negative *staphylococci*. *Antimicrob Agents Chemoter* 1989; 33: 813-816.
- Evans, RC, Holmes, CJ. Effect of vancomycin hydrochloride on *Staphylococcus epidermidis* biofilm associated with silicone elastomer. *Antimicrob Agentes Chemoter* 1987; 31: 889-894.