



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

[www.elsevier.es/eimc](http://www.elsevier.es/eimc)



Original

## Evaluación de métodos para el estudio de la sensibilidad a oxacilina y penicilina en 60 aislamientos de *Staphylococcus lugdunensis*

Nínive Batista <sup>a</sup>, M. Paula Fernández <sup>a,\*</sup>, Magdalena Lara <sup>a</sup>, Federico Laich <sup>b</sup> y Sebastián Méndez <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, España

<sup>b</sup> Unidad de Investigación, Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 6 de febrero de 2008

Aceptado el 10 de abril de 2008

On-line el 10 de febrero de 2009

#### Palabras clave:

Estafilococo coagulasa negativo

*Staphylococcus lugdunensis*

Betalactamasa

Gen *mecA*

### RESUMEN

**Introducción:** *Staphylococcus lugdunensis* es un estafilococo coagulasa negativo relacionado con diversos tipos de infección. En este trabajo se presentan los resultados de un estudio comparativo mediante cuatro métodos para determinar la sensibilidad a oxacilina y penicilina.

**Material y métodos:** se estudiaron 60 aislamientos de *S. lugdunensis* procedentes de muestras clínicas enviadas a nuestro laboratorio durante 8 años. Todos los aislados fueron coagulasa y DNase negativos. La identificación se realizó bioquímicamente mediante API ID 32 STAPH (bioMérieux). En todos los casos se analizó la presencia de betalactamasa y la detección del gen *mecA*. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó mediante: Vitek 2 System (bioMérieux) y microdilución en caldo (Wider) (Soria Melguizo) para oxacilina y penicilina; E-test (AB Biodisk) y método de difusión con disco de cefoxitina (BD BBLTM), para ensayar la sensibilidad a oxacilina.

**Resultados:** todos los aislamientos fueron *mecA* negativos y sensibles a oxacilina en microdilución en caldo, E-test y en el método de difusión con cefoxitina, mientras que en Vitek 2 solamente dos aislamientos fueron resistentes a oxacilina; 24 (40%) fueron betalactamasa positivos, 4 tras inducción. Los resultados de susceptibilidad a penicilina mostraron que 48 aislamientos presentaban concordancia entre los obtenidos por microdilución en caldo y Vitek 2, pero 12 (20%) mostraron resultados discrepantes.

**Conclusiones:** en nuestro estudio no hemos hallado ningún aislamiento de *S. lugdunensis* resistente a oxacilina; los métodos de microdilución en caldo (Wider), E-test de oxacilina y difusión con disco de cefoxitina son adecuados para el estudio de sensibilidad a este antibiótico. El empleo del sistema Vitek 2 es útil para el estudio de la sensibilidad a penicilina si se aplica la prueba de betalactamasa a los aislamientos con concentración mínima inhibitoria (CMI) de 0,25 µg/ml para evitar la interpretación de una falsa resistencia a dicho antibiótico.

© 2008 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Evaluation of methods for studying susceptibility to oxacillin and penicillin in 60 *Staphylococcus lugdunensis* isolates

### ABSTRACT

#### Keywords:

Coagulase-negative staphylococcus

*Staphylococcus lugdunensis*

β-lactamase

*mecA* gene

**Introduction:** *Staphylococcus lugdunensis* is a coagulase-negative staphylococcus associated with a variety of clinical infections. In this paper we present the results of a comparative study using 4 methods to determine antimicrobial susceptibility to oxacillin and penicillin in 60 *S. lugdunensis* isolates.

**Material and methods:** We studied 60 *S. lugdunensis* isolates obtained from clinical specimens sent to our laboratory over an 8-year period. All isolates were free coagulase-negative and DNase-negative, and biochemically identified by API ID 32 STAPH (bioMérieux). Presence of *mecA* and β-lactamase production were studied in all cases. Antimicrobial susceptibility was determined by the Vitek 2 System (bioMérieux) and broth microdilution (Wider) (Soria Melguizo) for penicillin and oxacillin, and the E-test (AB Biodisk) and cefoxitin disk diffusion test (BD BBLTM) for oxacillin.

**Results:** All isolates lacked the *mecA* gene and were susceptible to oxacillin by broth microdilution, E-test, and cefoxitin disk diffusion test. Only two isolates were oxacillin-resistant by the Vitek 2 System. Twenty-four isolates (40%) were β-lactamase-positive, 4 after induction. Susceptibility testing to penicillin determined that 48 isolates showed concordance between the results obtained by broth microdilution and Vitek 2, but 12 isolates (20%), showed divergent results.

**Conclusions:** We detected no resistance to oxacillin in *S. lugdunensis*. All the methods evaluated were adequate for determining oxacillin resistance. The Vitek 2 System is useful for detecting penicillin

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [mpfersar@hispavista.com](mailto:mpfersar@hispavista.com) (M.P. Fernández).

resistance, but the  $\beta$ -lactamase test should be applied to isolates with a MIC = 0.25  $\mu$ g/ml to avoid the interpretation of false resistance to this antibiotic.

© 2008 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

*Staphylococcus lugdunensis* se ha mostrado, desde su descripción en 1988, como uno de los estafilococos coagulasa negativos con mayor capacidad patógena<sup>1</sup>. Desde entonces se ha estudiado la sensibilidad frente a diversos antimicrobianos de algunas series de aislados, sobre todo, con los métodos de dilución en agar<sup>2,3</sup> y microdilución en caldo<sup>4,5</sup>, y sólo en contadas ocasiones se han hecho estudios comparativos entre diversas técnicas<sup>6–8</sup>. El estudio de la sensibilidad a penicilina se ha determinado mediante el empleo de la prueba de betalactamasa, tras inducción o no, con resultados diversos. Asimismo, se ha analizado, en algunos casos, la utilidad de diversos sistemas comerciales automatizados<sup>7,9–12</sup>, aunque generalmente se han analizado series de estafilococos coagulasa negativos con escasa representación de *S. lugdunensis*.

El objetivo de nuestro estudio es analizar y comparar la sensibilidad a penicilina y oxacilina de 60 aislamientos clínicos de *S. lugdunensis* mediante cuatro métodos de sensibilidad antimicrobiana.

## Material y métodos

### Aislamientos bacterianos

Se estudiaron 60 aislamientos de *S. lugdunensis* recopilados durante un período comprendido entre 1999 y 2007. Estos aislados procedían de diversos tipos de muestras clínicas (líquidos orgánicos y exudados de piel y tejidos blandos) obtenidos de 58 pacientes atendidos en el área de salud del Hospital Nuestra Señora de Candelaria de Santa Cruz de Tenerife.

Los aislamientos fueron conservados a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  en viales estériles Microbank<sup>TM</sup> (ProLab Diagnostics, Richmond Hill, Ontario, Canadá), subcultivados en placas de Agar Columbia +5% de sangre de cordero (bioMérieux, Marcy l'Étoile, Francia) e incubados a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 h en atmósfera de aerobiosis.

### Cepas control

Las cepas de control utilizadas fueron *S. lugdunensis* ATCC 43809 y *S. aureus* ATCC 25923.

### Métodos de identificación de especie

La identificación fenotípica se realizó mediante tinción de Gram, producción de catalasa, actividad de desoxirribonucleasa, producción de coagulasa en tubo (BD BBLTM Coagulase Plasma, Becton Dickinson, Maryland, Estados Unidos), pirrolidinilarilamida (PYR) (Oxoid, Inglaterra) y galería API ID 32 Staph (bioMérieux, Marcy l'Étoile, Francia).

### Métodos de estudio de susceptibilidad antimicrobiana a oxacilina y penicilina

Las pruebas de susceptibilidad se realizaron a partir de cultivos incubados durante 18–24 h. Los métodos empleados fueron:

A. Sistema automático Vitek 2, tarjetas AST P523 y AST P536 (bioMérieux, Marcy l'Étoile, Francia); intervalo de concentración

mínima inhibitoria (CMI): penicilina,  $\leq 0,03$ – $\geq 0,5$   $\mu$ g/ml; oxacilina,  $0,25$ – $4$   $\mu$ g/ml (la casa comercial sustituyó la tarjeta AST P523 por la AST P536, con las mismas concentraciones de CMI para penicilina y oxacilina).

B. Microdilución (MIC) en caldo con sistema semiautomático Wider mediante panel MIC grampositivos (Soria Melguizo, España); intervalo de CMI: penicilina,  $0,06$ – $8$   $\mu$ g/ml; oxacilina,  $0,25$ – $4$   $\mu$ g/ml.

C. E-test de oxacilina (AB Biodisk, Suecia); intervalo de CMI,  $0,016$ – $256$   $\mu$ g/ml; la lectura se realizó a las 24 y las 48 h.

D. Método de difusión con disco de 30  $\mu$ g de cefoxitina (BD BBLTM, Becton Dickinson, Maryland, Estados Unidos).

Para determinar la susceptibilidad a penicilina se utilizaron los métodos A, B y prueba de betalactamasa como método de referencia. La sensibilidad a oxacilina se determinó mediante los cuatro métodos antes descritos.

Los métodos A, B y C se realizaron según las normas del fabricante.

Los resultados fueron interpretados aplicando los criterios CLSI 2007 (CMI oxacilina,  $\leq 2$   $\mu$ g/ml,  $\geq 4$   $\mu$ g/ml; CMI penicilina,  $\leq 0,12$   $\mu$ g/ml,  $\geq 0,25$   $\mu$ g/ml; halos de inhibición cefoxitina,  $\leq 21$  mm,  $\geq 22$  mm)<sup>13</sup>.

Se valoró la presencia del gen *mecA* en los 60 aislamientos como método de referencia para determinar la resistencia a oxacilina, para lo cual se empleó una PCR previamente validada<sup>14</sup>.

### Estudio de producción de betalactamasa

En todos los aislamientos se determinó la producción de betalactamasa mediante cefalosporinasa cromogénica (Nitrocefín) (Cefinase, Becton Dickinson, Estados Unidos). En los casos en que se observaron valores de CMI resistentes a penicilina, en Vitek 2 o MIC caldo, y con betalactamasa inicial negativa, se repitió la prueba tras inducción con oxacilina<sup>6</sup>.

### Análisis estadístico de los resultados

Para las comparaciones de las CMI obtenidas entre los métodos de susceptibilidad se emplea la prueba de Kruskal-Wallis y, de haber diferencia, el método frente a método con la prueba U de Mann-Whitney. Para las comparaciones de las proporciones de resistencia obtenidas con cada método se emplea la prueba de la  $\chi^2$  de Pearson. Todas las pruebas de contraste de hipótesis son bilaterales a un nivel de significación estadística de 0,05 y los cálculos se realizan con el paquete de ordenador SPSS 15.0.

## Resultados

### Susceptibilidad a oxacilina

Todos los aislamientos fueron sensibles en MIC en caldo (B); se obtuvieron unos valores de CMI comprendidos entre  $\leq 0,25$   $\mu$ g/ml y  $1$   $\mu$ g/ml; también fueron sensibles en el E-test de oxacilina (C) con CMI entre  $0,094$  y  $0,75$   $\mu$ g/ml, sin variaciones significativas en la lectura de los resultados a las 24 y las 48 h de incubación, así como en el método de difusión con disco de cefoxitina (D) con unos halos de inhibición entre  $29$  y  $35$  mm. La sensibilidad de

estos tres métodos fue del 100%, así como la concordancia entre ellos.

Mediante el sistema Vitek 2, 58 de los 60 aislamientos mostraron valores de CMI entre  $\leq 0,25$  µg/ml y 2 µg/ml, con una sensibilidad del 96,8%. Los dos aislamientos restantes que resultaron ser resistentes en Vitek 2 (ambos con CMI  $\geq 4$  µg/ml) fueron sensibles en MIC en caldo ( $\leq 0,25$  µg/ml y 1 µg/ml, respectivamente), en E-test de oxacilina (0,38 µg/ml y 0,25 µg/ml) y en el método de difusión con disco de cefoxitina (33 y 32 mm). Ambos fueron betalactamasa positivos y resistentes a penicilina.

Se observa una tendencia en los valores de CMI al comparar los resultados entre las pruebas. En el 64% de las determinaciones el sistema Vitek 2 produce valores de CMI mayores que los obtenidos en MIC en caldo, que llegan a alcanzar 1,75 µg/ml, y en el 97%, superiores a E-test, con una diferencia de 1,88 µg/ml, mientras las CMI obtenidas con MIC en caldo exceden a las del E-test en el 95% de aislamientos, que llegan a alcanzar una diferencia de hasta 0,88 µg/ml. Todas estas tendencias alcanzan la significación estadística ( $p < 0,001$ ).

#### PCR para el gen *mecA*

Todos aislamientos fueron *mecA* negativos.

#### Susceptibilidad a penicilina y producción de betalactamasa

Los resultados de susceptibilidad a penicilina obtenidos en el sistema Vitek 2 y en MIC en caldo se recogen en la **tabla 1**.

Veinticinco aislamientos (41%) fueron sensibles tanto con el sistema Vitek 2 (CMI, 0,03–0,12 µg/ml) como con el método de MIC en caldo (0,06–0,12 µg/ml), todos fueron betalactamasa negativos; 23 (38%) se mostraron resistentes por ambos métodos (Vitek 2, 0,25–0,5 µg/ml, sensibilidad del 96%; MIC caldo, 0,5–>8 µg/ml, 100% de sensibilidad) y todos fueron betalactamasa positivos. La concordancia entre el sistema Vitek 2 y la MIC en caldo alcanza el 79%.

En 12 (20%) casos se observaron discrepancias en los valores de CMI entre los dos métodos (**tabla 2**). Todos los aislamientos con resultados discrepantes fueron reanalizados, con los mismos resultados.

En el 41% de los aislamientos la prueba Vitek ofrece valores de CMI que superan los de MIC en caldo, estas diferencias llegan a alcanzar valores de 0,19 µg/ml, con significación estadística ( $p < 0,001$ ).

De los 60 aislamientos, 20 fueron betalactamasa positivos inicialmente, todos resistentes a penicilina (CMI, 2–>8 µg/ml en MIC en caldo; 0,25–>0,5 µg/ml en Vitek 2).

En 15 casos se repitió la prueba de betalactamasa mediante inducción con oxacilina, de los cuales cuatro resultaron ser positivos y resistentes a penicilina por ambos métodos (CMI >8 µg/ml en MIC en caldo y  $\geq 0,5$  µg/ml en Vitek 2) (aislamientos n.º 26, 27, 28, 30; **tabla 3**), mientras que los 11 restantes,

**Tabla 2**

Discrepancias en los resultados de CMI para penicilina entre los sistemas Vitek 2 y microdilución en caldo (Wider)

N.º de aislamiento	Vitek 2 (µg/ml)	MIC caldo Wider (µg/ml)	Betalactamasa (inicial)	Betalactamasa (inducción)
1	0,12	>8	+	ND
2	$\leq 0,03$	0,5	-	-
3	$\geq 0,25$	$\leq 0,06$	-	-
4	0,25	$\leq 0,06$	-	-
5	0,25	$\leq 0,06$	-	-
6	$\geq 0,25$	$\leq 0,06$	-	-
7	0,25	0,12	-	-
8	$\geq 0,5$	$\leq 0,06$	-	-
9	0,25	$\leq 0,06$	-	-
10	0,25	$\leq 0,06$	-	-
11	0,25	$\leq 0,06$	-	-
12	0,25	$\leq 0,06$	-	-

ND: no determinada.

**Tabla 3**

Relación de aislamientos de *S. lugdunensis* con prueba de betalactamasa positiva

N.º de aislamiento	Betalactamasa inicial	Betalactamasa inducción	CMI penicilina	
			MIC caldo (Wider) (µg/ml)	Vitek 2 (µg/ml)
1	+	ND	0,12	>8
13	+	ND	0,5	>8
14	+	ND	$\geq 0,5$	2
15	+	ND	$\geq 0,5$	>8
16	+	ND	0,5	>8
17	+	ND	0,5	>8
18	+	ND	0,5	>8
19	+	ND	0,5	>8
20	+	ND	$\geq 0,5$	>8
21	+	ND	$\geq 0,5$	>8
22	+	ND	$\geq 0,5$	>8
23	+	ND	$\geq 0,5$	>8
24	+	ND	$\geq 0,5$	>8
25	+	ND	0,25	>8
26	-	+	0,5	>8
27	-	+	$\geq 0,5$	>8
28	-	+	$\geq 0,5$	>8
29	+	ND	$\geq 0,5$	>8
30	-	+	$\geq 0,5$	>8
31	+	ND	$\geq 0,5$	>8
32	+	ND	$\geq 0,5$	>8
33	+	ND	$\geq 0,5$	>8
34	+	ND	$\geq 0,5$	4
35	+	ND	$\geq 0,5$	>8

CMI: concentración mínima inhibitoria; ND: no determinada.

representados en la **tabla 2** (aislamientos n.º 2 a 12), tuvieron una prueba negativa.

En total, se detectó producción de betalactamasa en 24 (40%) casos, todos ellos resistentes a penicilina (**tabla 3**).

#### Discusión

En los últimos años, las normas de interpretación de resultados obtenidos en pruebas de sensibilidad antimicrobiana, han sufrido diversas modificaciones en relación con los estafilococos, especialmente *S. aureus* y *S. lugdunensis* (NCCLS hasta el año 2004 y CLSI a partir de dicho año).

Hasta el año 2004, las normas para el estudio de sensibilidad a oxacilina y penicilina de aislados de *S. lugdunensis* se asimilaban a

**Tabla 1**

Sensibilidad a penicilina de 60 aislamientos de *S. lugdunensis* en MIC caldo (Wider) y sistema Vitek 2 (n = 60)

Vitek 2	MIC caldo (Wider)	
	Sensibilidad	Resistencia
Sensibilidad	25	2 <sup>a</sup>
Resistencia	10 <sup>b</sup>	23

<sup>a</sup> Aislamientos 1–2.

<sup>b</sup> Aislamientos 3–12 de **tabla 2**.

las establecidas para el conjunto de los estafilococos coagulasa negativos (ECN)<sup>15</sup>.

Tras el hallazgo, en diversos estudios<sup>3,12,16</sup>, de discrepancias entre los resultados de resistencia a oxacilina y ausencia del gen *mecA* en distintas especies de ECN, entre los que se incluía *S. lugdunensis*, se propuso asimilar la interpretación de los resultados de *S. lugdunensis* a los de *S. aureus*, de forma que una CMI  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$  determina la sensibilidad a oxacilina y una CMI  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ , la resistencia<sup>17</sup>. Además, en 2006 se recomendó el empleo del método de difusión con disco de 30  $\mu\text{g}$  de cefoxitina<sup>18</sup> en vez del disco de oxacilina para la detección de resistencia a oxacilina en *S. lugdunensis*, y en 2007, se modificó la medida del halo de lectura del disco de cefoxitina de 20 a 22 mm<sup>13</sup>.

Ninguno de los aislamientos estudiados en nuestro trabajo presentaba el gen *mecA*. En la literatura inglesa solamente se hallan referidos dos aislamientos de *S. lugdunensis* *mecA* positivos; uno de ellos relacionado con una bacteriemia por catéter (caracterizado por PCR y con una CMI a oxacilina  $> 256 \mu\text{g/ml}$  en E-test)<sup>19</sup>. El otro mostraba un resultado sensible en el método de dilución en agar con cefoxitina, aunque sí era resistente en el mismo método con oxacilina (no se indicaba CMI)<sup>20</sup>.

Mateo et al<sup>7</sup> usaron el método Vitek 2 para estudiar una serie de 17 aislamientos de *S. lugdunensis*; hallaron que 13 de ellos presentaban valores de CMI entre 0,5 y 2  $\mu\text{g/ml}$ , pero eran *mecA* negativos, lo que coincidía con los resultados referidos por otros autores<sup>10,11,16</sup> puesto que se aplicaban las normas vigentes hasta el año 2004<sup>15</sup>.

En este estudio se hallaron dos aislamientos con CMI  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$  mediante el sistema Vitek 2, que luego no se confirmaron por MIC en caldo ni presentaban el gen *mecA*, lo que determinó que se trataba de una falsa resistencia.

Tanto el método de difusión con disco de cefoxitina como el E-test mostraron resultados de sensibilidad a oxacilina en todos los aislados, concordantes con el método de MIC en caldo.

Por otra parte, las normas de interpretación para la lectura de resultados de sensibilidad a penicilina en estafilococos han permanecido estables desde 2004 hasta hoy (CLSI 2007), de forma que son sensibles aquellos con CMI  $\leq 0,12 \mu\text{g/ml}$  y resistentes los de CMI  $\geq 0,25 \mu\text{g/ml}$ . Las normas actuales indican que los aislamientos de *S. aureus* resistentes a penicilina son productores de betalactamasa y los que tienen una CMI  $\leq 0,03 \mu\text{g/ml}$  son betalactamasa negativos, por otra parte, en los casos con CMI entre 0,06 y 0,12  $\mu\text{g/ml}$  se recomienda hacer la prueba de inducción de betalactamasa.

Para analizar los resultados de sensibilidad a penicilina obtenidos en nuestro trabajo hemos aplicado estas normas a los aislamientos de *S. lugdunensis* incluidos en este estudio, teniendo en cuenta que en esta especie no se considera de modo específico la interpretación de los resultados de los ensayos con penicilina.

De esta forma, hallamos que un 40% de nuestros aislamientos eran productores de betalactamasa, lo que supone un mayor porcentaje que el referido por otros autores<sup>4-9</sup>, esto podría atribuirse a una cuestión epidemiológica, aunque hay que tener en cuenta que en el presente trabajo no se ha estudiado la relación clonal de los aislamientos. Por otra parte, la prueba de inducción con oxacilina ha sido poco utilizada<sup>6,9</sup>, aunque en nuestro trabajo sólo cuatro aislados dieron resultado positivo tras la aplicación de esta prueba.

De los dos aislamientos sensibles a penicilina en Vitek 2 y resistentes en MIC caldo, uno era productor de betalactamasa, lo que podría explicar este resultado, pero el segundo resultó ser betalactamasa negativo incluso tras inducción, lo que permitiría pensar en un mecanismo de resistencia diferente. Otros 10 aislamientos con resultados discrepantes presentaron CMI cercanas al límite de sensibilidad en casi todos los casos (tabla 2).

Aunque se recomienda aplicar la prueba de betalactamasa tras inducción a los estafilococos con CMI a penicilina de 0,06–0,12  $\mu\text{g/ml}$ , todos los aislamientos incluidos en nuestro estudio que presentaron dichos valores de CMI fueron betalactamasa negativos, tal como señalan también Zbinden et al<sup>9</sup>. Además, los aislamientos resistentes a penicilina en Vitek 2 y sensibles en MIC en caldo (tabla 2) también fueron betalactamasa negativos, incluso tras inducción.

De los datos obtenidos en este trabajo, podríamos concluir que no hemos hallado ningún aislamiento resistente a oxacilina y que la producción de betalactamasa es una característica de frecuencia variable en *S. lugdunensis*. Por otra parte, la sensibilidad a oxacilina se puede estudiar de forma fiable por el sistema Vitek 2, el método E-test y el método de difusión con disco de 30  $\mu\text{g}$  de cefoxitina; este último es el método más sencillo y económico. En relación con los resultados de penicilina obtenidos mediante el sistema Vitek 2, podría proponerse la realización de una prueba de betalactamasa tras inducción en los aislamientos con CMI a penicilina  $\geq 0,25 \mu\text{g/ml}$ , dado que se hallaron 9 (15%) aislamientos con este valor de CMI y todos fueron betalactamasa negativos, y según las normas CLSI se los habría considerado como resistentes.

En resumen, este trabajo ha tratado de establecer los métodos más adecuados para evaluar la resistencia a oxacilina y penicilina en *S. lugdunensis*, mediante el estudio de un número apreciable de aislamientos, aplicando las últimas normas del CLSI.

## Agradecimientos

A Armando Aguirre Jaime (Metodología de la Investigación del Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria).

## Bibliografía

1. Poutanen SM. *Staphylococcus lugdunensis*: a notable distinct coagulase-negative *Staphylococcus*. Clin Microbiol News. 2001;23:147-50.
2. Fleurette J, Bès M, Brun Y, Freney J, Forey F, Coulet M, et al. Clinical isolates of *S. lugdunensis* and *S. schleiferi*: bacteriological characteristics and susceptibility to antimicrobial agents. Res Microbiol. 1989;140:107-18.
3. Hussain Z, Stoakes L, Massey V, Diagre D, Fitzgerald V, El Sayed S, et al. Correlation of oxacillin MIC with *mecA* gene carriage in coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol. 2000;38:752-4.
4. Herchline TE, Barnish J, Ayers LW, Fass RJ. Penicillinase production and in vitro susceptibilities of *Staphylococcus lugdunensis*. Antimicrob Agents Chemother. 1990;34:2434-5.
5. Sánchez P, Buezas V, Maestre JR. Infección por *Staphylococcus lugdunensis*: presentación de 13 casos. Enferm Infect Microbiol Clin. 2001;19:475-8.
6. Hébert GA. Hemolysins and other characteristics that help differentiate and biotype *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus schleiferi*. J Clin Microbiol. 1990;28:2425-31.
7. Mateo M, Maestre J-R, Aguilar L, Cafini F, Puente P, Sánchez P, et al. Genotypic versus phenotypic characterization, with respect to susceptibility and identification, of 17 clinical isolates of *Staphylococcus lugdunensis*. J Antimicrob Chemother. 2005;56:287-91.
8. Hellbacher C, Törnqvist E, Söderquist B. *Staphylococcus lugdunensis*: clinical spectrum, antibiotic susceptibility, and phenotypic and genotypic patterns of 39 isolates. Clin Microbiol Infect. 2006;12:43-9.
9. Zbinden R, Von Graevenitz A, Rossi J, Kurnin E, Bercher-Bachi B, Hachler H, et al. False-positive beta-lactamase results with *Staphylococcus lugdunensis* in the Vitek Automicrobiic system. Zentralbl Bakteriol. 1999;289:365-70.
10. Louie L, Majury A, Goodfellow J, Louie M, Simor AE. Evaluation of a latex agglutination test (MRSA-Screen) for detection of oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol. 2001;39:4149-51.
11. Horstkotte MA, Knobloch J K-M, Rhode H, Dobinsky S, Mack D. Rapid detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci with the VITEK 2 system. J Clin Microbiol. 2002;40:3201-5.
12. Woods W, Ramotar K, Lem P, Toye B. Oxacillin susceptibility testing of coagulase-negative staphylococci using the disk diffusion method and the Vitek GPS-105 card. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002;42:291-4.
13. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 17th Informational Supplement. M100-S17, CLSI, Wayne; 2007.
14. Pérez-Roth E, Claverie-Marín F, Villar J, Méndez-Álvarez S. Multiplex PCR for simultaneous identification of *Staphylococcus aureus* and detection of methicillin and mupirocin resistance. J Clin Microbiol. 2001;39:4037-41.

15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 14th Informational Supplement. M100-S14, NCCLS, Wayne; 2004.
16. Ferreira RBR, Iorio NLP, Malvar KL, Nunes APF, Fonseca LS, Bastos CCR, et al. Coagulase-negative staphylococci: Comparison of phenotypic and genotypic oxacillin susceptibility tests and evaluation of the agar screening test by using different concentrations of oxacillin. *J Clin Microbiol*. 2003;41:3609-14.
17. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 15th Informational Supplement. M100-S15, CLSI, Wayne; 2005.
18. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 16th Informational Supplement. M100-S16, CLSI, Wayne; 2006.
19. Tee WSN, Soh SY, Lin R, Loo LH. *Staphylococcus lugdunensis* carrying the *mecA* gene causes catheter-associated bloodstream infection in premature neonate. *J Clin Microbiol*. 2003;41:519-20.
20. Palazzo ICV, Darini AL. Evaluation of methods for detecting oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci including cefoxitin disc diffusion. *FEMS Microbiol Lett*. 2006;257:299-305.