

Farklı Hayvansal Kaynaklardan İzole Edilen Koagulaz Negatif Stafilokoklarda *Slime* Üretimi ve Aderans

Oktay KESKİN

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa - TÜRKİYE

Gülay ALTAY

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mudurnu Meslek Yüksek Okulu, Bolu - TÜRKİYE

Mehmet AKAN

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 15.04.2002

Özet: Bu çalışmada, mastitisli inek sütlerinden ve patolojik bozuklukları olan tavuklardan izole edilen koagulaz negatif stafilokok (KNS) suşlarının, *slime* üretme ve aderans özelliklerinin saptanması amaçlandı. Mastitisli inek sütlerinden izole edilen 60 adet KNS suşu ile deri ve eklem bozuklukları olan tavuklardan izole edilen 60 adet KNS suşu incelendi. Kontrol olarak sağlıklı inek ve tavukların normal floralarından izole edilen 20'şer adet KNS suşu kullanıldı.

Slime üretiminin tespiti için tüp yöntemi kullanıldı ve bir gün sonra tüp yüzeyindeki film tabakasının oluşumuna ve yoğunluğuna göre, (-), (+), (++) ve (+++) olarak sonuçlar değerlendirildi. Aderansın saptanması için spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Test her suş için 3 kez tekrar edilerek OD değerlerinin ortalamaları alındı ve sonuçlar kuvvetli aderans, aderans ve aderans olmayan suş şeklinde değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmeler ki-kare testi kullanılarak yapıldı.

Sonuç olarak, mastitisli ineklerin süt örneklerinden ve tavuklardan lezyonlardan izole edilen patojenik KNS suşlarının, sağlıklı hayvanlardan izole edilen kontrol suşlarına oranla daha fazla oranda *slime* oluşturdıkları ve daha aderans oldukları tespit edildi. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunduğundan (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.05$) *slime* üretimi ve aderans özelliğinin, KNS suşlarının hastalık yapabilme güçleri ile ilişkili olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Koagulaz negatif stafilokok, *slime* üretimi, aderans, inek sütü, tavuk

Adherence and *Slime* Production in Coagulase Negative Staphylococci Isolated from Different Animal Sources

Abstract: The aim of this study was to determine *slime* production and the adherence of coagulase negative staphylococci (CNS) strains isolated from cows' milk with mastitis and chickens which have pathological disorders. For this purpose, 60 CNS strains isolated from cows' milk with mastitis and 60 from chickens suffering from skin and joint diseases were examined. In addition, 20 strains isolated from healthy cows and healthy chickens were used as control groups.

Slime production was conducted by the tube method and the results were recorded as -, +, ++ and +++ after 24 h incubation according to the formation of a film layer on the tube surface (inside walls) and the thickness of the film layer. Adherence was determined by spectrophotometry. Adherence measurements were repeated three times to obtain a median OD value. According to the results, bacteria were grouped in three categories: nonadherent, weakly adherent and strongly adherent. Comparisons of our findings were performed through chi-square test.

In conclusion, pathogenic CNS strains isolated from the milk of cows with mastitis and lesions of chickens were more *slime* productive and adherent compared to strains isolated from healthy animals. This difference between the two groups was found to be clinically significant ($p < 0.001$ and $p < 0.05$, respectively) and led us to conclude that *slime* productivity and adherence may be related to a disease caused by CNS strains.

Key Words: Coagulase negative staphylococcus, *slime* production, adherence, bovine milk, chicken

Giriş

Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) uzun süredir zararsız, kommensal veya kontaminant bakteriler olarak değerlendirilmiş olmalarına karşın, insanlarda patojenik etkilerinin olduğu ve çeşitli infeksiyonlara sebep oldukları bildirilmektedir (1-7). KNS'ların aynı zamanda hayvanlarda da hastalık oluşturduğu ve infekte inek ve keçi meme bezlerinden sıklıkla izole edilebildiği vurgulanmaktadır. KNS'lar, subklinik mastitis olgularında ikinci derecede patojen olarak kabul edilmekle birlikte, akut mastitise de sebep olduğu belirtilmektedir (8-12). Birgersson ve ark. (9), klinik mastitis olgularınının % 11'inden, Keane ve Taylor (13) da köpeklerde pyoderma olgularından *slime* oluşturan KNS suşlarının izole edildiğini bildirmektedirler. KNS'lar insanlarda daha çok cerrahi müdahalelerde, kateter ve bazı implantasyon uygulamalarında hastalık oluşturmaktadırlar (14). Virulens faktörleri henüz tam olarak aydınlatılmadığından dolayı patojen ve apatojen KNS'ların birbirinden ayrımı zordur. *Staphylococcus aureus*'un virulens faktörleri, *slime* üretimi veya spesifik substanslara aderans, etkenler tarafından salgılanan alfa, beta ve gama hemoliziner ile elastaz ve nukleaz gibi sitotoksik ve enzimatik aktiviteye sahip çeşitli ekzoproteinlerdir (15-17). KNS türlerinde de benzer aktiviteler saptanmış olup (18,19), bazı KNS'lar tarafından sentezlenen gama hemolizinin, insan embriyo akciğer fibroblastlarında dejenerasyonlara neden olduğu ve *Staphylococcus epidermidis* tarafından sentezlenen elastazın, insanlarda IgA, IgM, serum albumini, fibrinojen ve fibronektini parçaladığı bildirilmektedir (20,21).

Bazı KNS suşlarının, *slime* olarak tanımlanan ekstrasellüler bir faktör sentezleyebildiği belirtilmektedir (4,22,23). Mikroorganizmayı konağın savunma sisteminden koruduğu için, *slime* üretimi önemli bir virulens faktörü olarak düşünülmekte (4,23) ve % 40 karbonhidrat, % 27 protein yapısında olan *slime* faktörünün saptanması, KNS'ların patojenitelerinin belirlenmesinde önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir (13,24). Birçok araştırmada (4,22,23,25,26), *slime* üreten KNS'ların daha aderan olduğu ve KNS infeksiyonlarının özellikle aderan suşlar tarafından oluşturulduğu belirtilmektedir. Bakteriyel aderans, infeksiyonun ilk aşaması olup etkenin kolonizasyonunu sağlayan önemli bir faktördür. *Slime* üretimi ile antibiyotiklere direnç arasında da ilişki olduğu ve bu suşların oluşturduğu infeksiyonların eradikasyonunun güç olduğu bildirilmektedir (27,28).

Bu çalışmada tavuklardan ve mastitisli inek sütlerinden izole edilen KNS'larda *slime* üretimi, aderans ve patojenite arasındaki ilişkinin saptanması ve bu özelliklerin hastalık etkeni olmayan KNS'larla karşılaştırılması amaçlandı.

Mateyal ve Metot

KNS suşları

Çalışmada, 60'ı mastitisli inek sütlerinden ve 60'ı da deri ve eklem bozuklukları olan tavuklardan alınan marazi maddelerden izole edilen toplam 120 adet KNS suşu deneme grubu, sağlıklı inek ve tavukların normal floralarından izole edilen 20'şer adet KNS suşu da kontrol grubu olarak kullanıldı.

İzolasyon ve identifikasyon çalışmaları

Çalışmada, daha önceden izole ve identifiye edilerek -20 °C'de saklanan ve % 7 koyun kanlı Trypticase Soy agarda -TS agar- (Oxoid) pasajlanarak saflık kontrolleri yapılan suşlar (katalaz pozitif ve tüp koagülaz negatif olan Gram pozitif koklar) kullanıldı (8,29).

Slime üretimi

Slime üretiminin saptanması için tüp yöntemi kullanıldı (25). KNS suşları TS agarda iki kez pasajlandıktan sonra 10 ml Trypticase Soy broth-TS buyyon-(Oxoid) bulunan tüplere McFarland No I yoğunluğunda ekildi ve 18 saat 37 °C'de inkube edilerek içerikleri yavaşça boşaltıldı. Daha sonra 0.01 M fosfat tampon solüsyonu (pH 7.2) ile tüpler yıkandı. Tüplere % 1'lik safranin solüsyonu konarak oda ısısında 30 dakika bekletildi ve boya solüsyonu boşaltılarak tüpler iki kez fosfat tampon solüsyonu ile yıkandıktan sonra filtre kağıdı üzerine ters çevrilerek kurumaları için bırakıldı. Ertesi gün tüpün yüzeyinde renkli bir film tabakasının oluşumu pozitif ve bu tabakanın yoğunluğuna göre sonuçlar (+), (++) ve (+++) olarak, film tabakası oluşmayan tüpler ise (-) olarak değerlendirildi.

Aderansın saptanması

Çalışmaya alınan suşların aderansını saptamak için Christensen ve ark. (25) tarafından bildirilen spektrofotometrik yöntem kullanıldı. KNS suşları TS buyyonda 18 saat üretildikten sonra yine TS buyyon ile 1/100 oranında sulandırılarak steril polistiren pleytlerdeki her bir göze 0.2 ml miktarında konuldu ve 37 °C'de 18 saat inkube edildi. Daha sonra gözlerin içeriği aspire edilerek her bir göz 0.2 ml miktarında fosfat tampon solüsyonu ile dört kez yıkandı. Bouin fiksatif ile fikzasyon

yapıldıktan sonra Hucker kristal viyolesi ile boyama yapıldı. Boyama sonunda pleytler musluk suyu ile yıkanarak boyanın fazlası uzaklaştırıldı ve pleytler kuruduktan sonra 540 nm'lik filtre ile otomatik okuyucuda (Biotek Instruments) optik dansiteleri belirlendi. Bu test her suş için üç kez yapılarak okunan optik dansite değerlerinin aritmetik ortalaması alındı. Optik dansite 0.240'tan büyük olan suşlar kuvvetli aderan, 0.120-0.240 arasında aderan ve 0.120 ve altında ise aderan olmayan suşlar olarak değerlendirildi.

İstatistik değerlendirme

Elde edilen bulguların istatistiki olarak değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı.

Bulgular

İnek süt örneklerinden izole edilen 60 suştan 24'ü (% 40) *slime* üretimi pozitif ve aderan, 24'ü (% 40) sadece *slime* pozitif, 12'si (% 20) ise her iki özellik yönünden negatif bulundu. Kontrol suşlarından 1'i (% 5) hem *slime* pozitif hem de aderan, 2'si (% 10) *slime* pozitif, 1'i (% 5) aderan ve 16'sı da (% 80) her iki yönden negatif olarak değerlendirildi (Tablo 1).

Tavuklardan izole edilen suşların 18'i (% 30) *slime* pozitif ve aderan, 21'i (% 35) *slime* pozitif ve 21'i de (% 35) her iki açıdan negatif bulundu. Kontrol suşlarının 1'i (% 5) *slime* pozitif ve aderan, 1'i (% 5) *slime* pozitif ve 18'i de (% 90) her iki özellik yönünden negatif olarak saptandı (Tablo 2).

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, mastitisli ineklerin süt örneklerinden ve tavuklardaki lezyonlardan

izole edilen patojenik KNS suşlarının, sağlıklı hayvanlardan izole edilen kontrol suşlarına oranla daha fazla oranda *slime* yaptıkları ve daha aderan oldukları (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.05$) tespit edildi.

Tartışma

Bakteriyel infeksiyonlarda, etkenler kolonize olarak ve bazı ekstrasellüler ürünler salgılayarak bozukluklar oluştururlar. Bakteriyel aderans ise, infeksiyonun ilk basamağı olan kolonizasyonu sağlayan önemli bir özelliktir. Bir çok araştırmacı (4,6,9,13,22,25), *slime* üreten KNS suşlarının daha aderan olduklarını ve KNS infeksiyonlarından sıklıkla bu suşların izole edildiklerini belirtmektedirler. Davenport ve ark. (16), KNS infeksiyonlarında, *slime* üretiminin etkenin kolonizasyonunda ve infeksiyonun oluşumunda virulens faktör olarak önemli bir rol oynadığını ve KNS'dan ileri gelen infeksiyonların erken tanı ve tedavisinde *slime* üretiminin saptanmasının kullanılabilir bir test olduğunu savunmaktadırlar. İshak ve ark. (2), hastane kaynaklı septisemilerde, KNS suşlarının patojenitesi ile *slime* arasındaki ilişkiyi saptamak için yaptıkları bir araştırmada, identifikasyon ile birlikte *slime* üretiminin belirlenmesinin, kandan izole edilen KNS'larda % 89 güvenilirlikle kullanılabilceğini tespit ettiklerini bildirmekteler. Sewell ve ark. (5), KNS suşlarında tür tayini yapılmasının, etkenin klinik önemini belirlemede kısmen yararlı olabileceğini vurgulamaktadırlar. Bedidi-Madani ve ark. (8), keçi sütlerinden izole ettikleri KNS suşlarının ekzoproteinlerini ve *slime* üretme özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, kültürlerde % 42 oranında

	<i>Slime</i> pozitif		<i>Slime</i> negatif	
	Test suşları	Kontrol suşları	Test suşları	Kontrol suşları
Aderans pozitif	24	1	-	1
Aderans negatif	24	2	12	16

Tablo 1. İnek sütü orijinli suşlarda *slime* üretimi ve aderans.

	<i>Slime</i> pozitif		<i>Slime</i> negatif	
	Test suşları	Kontrol suşları	Test suşları	Kontrol suşları
Aderans pozitif	18	1	-	-
Aderans negatif	21	1	21	18

Tablo 2. Kanatlı orijinli suşlarda *slime* üretimi ve aderans.

slime oluşumu saptadıklarını belirtmektedirler. Bu çalışmada mastitisli inek sütlerinden izole edilen 60 suştan 24'ü (% 40) hem *slime* üretimi pozitif hem de aderan, 24'ü (% 40) de sadece *slime* üretimi pozitif bulunurken 12'si (% 20) ise her iki özellik yönünden de negatif bulunmuştur. Kontrol suşlarından 1'i (% 5) hem *slime* pozitif hem de aderan, 2'si (% 10) *slime* pozitif, 1'i aderan (% 5) ve 16'sı (% 80) da her iki yönden negatif olarak değerlendirildi. Tavuklardan izole edilen suşların 18'i (% 30) *slime* pozitif ve aderan, 21'i (% 35) *slime* pozitif ve 21'i de (% 35) her iki açıdan negatif bulundu. Kontrol suşlarının 1'i (% 5) *slime* pozitif ve aderan, 1'i (% 5) *slime* pozitif ve 18'i de (% 90) her iki özellik yönünden negatif olarak saptandı. Bu sonuçlara göre mastitisli inek süt örneklerinden ve tavuklardaki patolojik bozukluklardan izole edilen patojen KNS suşlarının, kontrol suşlarına göre hem daha fazla oranda *slime* ürettikleri, hem de daha aderan oldukları düşünülmektedir. Patojen ve kontrol grubu suşlarından elde edilen sonuçların istatistiki olarak değerlendirilmesinde, *slime* üretimi ve aderans için aradaki farkın önemli (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.05$) bulunması, araştırmacıların patojenite ile *slime* oluşturma özelliği ve aderans arasında önemli bir ilişki olduğu şeklindeki bildirimleriyle uyum içerisindedir.

Aderans özelliği, *slime* üretiminin bir sonucu olarak kabul edilmekte ve KNS'larda patogeneizde rol oynayan bir faktör olduğu bildirilmektedir (4,6,26). Bu çalışmada

mastitisli sütlerden izole edilen 60 suştan 48'i (% 80) tüp metodu ile *slime* üretimi pozitif bulunurken 24'ü de (% 40) aderan olarak saptandı. Kontrol olarak test edilen 20 suştan 3'ü (% 15) *slime* pozitif, 2'si (% 10) aderan olarak değerlendirildi. Tavuklardan izole edilen patojen suşlardan ise 39'u (% 65) *slime* pozitif, 18'i (% 30) aderan olarak belirlendi. Kontrol grubundaki 20 suştan 2'si (% 10) *slime* pozitif, 1'i (% 5) aderan olarak değerlendirildi. İnek orijinli bir kontrol suşu hariç aderan olan bütün suşların, aynı zamanda *slime* üretimi yönünden de pozitif olmaları, araştırmacıların *slime* üretiminin bakteriye aderans özelliği kazandırdığı yönündeki bulgularını doğrulamaktadır.

İnek orijinli patojen KNS suşları % 40 *slime* pozitif ve aderan, % 40 sadece *slime* pozitif ve % 20 her iki özellik yönünden negatif sonuç verirken, kanatlı orijinli patojen KNS suşları da buna benzer şekilde % 30 *slime* pozitif ve aderan, % 35 *slime* pozitif ve % 35 de her iki bakımdan negatif olarak bulundu.

Sonuç olarak mastitisli ineklerin süt örneklerinden ve tavuklardaki lezyonlardan izole edilen patojenik KNS suşlarının, sağlıklı hayvanlardan izole edilen kontrol suşlarına oranla daha fazla oranda *slime* ürettikleri ve daha aderan oldukları tespit edildi. Bu nedenle, *slime* üretimi ve aderans özelliğinin KNS suşlarının hastalık yapabilme güçleri ile ilişkili olabileceği ve klinik vakalarından izole edilen KNS suşlarının da dikkate alınmasının gerektiği sonucuna varıldı.

Kaynaklar

- Gill, V.J., Selepak, S.T., Williams, E.C.: Species Identification and Antibiotic Susceptibilities of Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Clinical Specimens. J. Clin. Microbiol., 1983; 18: 1314-1319.
- Ishak, M.A., Gröschel, D. H.M., Mandell, G.L., Wenzel, R.P.: Association of *Slime* with Pathogenicity of Coagulase-Negative Staphylococci Causing Nosocomial Septicemia. J. Clin. Microbiol., 1985; 22(6): 1025-1029.
- Kloos, W.E., Bannerman, T.L.: Update on Clinical Significance of Coagulase-Negative Staphylococci. Clin. Microbiol. Rev., 1994; 7: 117-140.
- Kotilainen, P.: Association of Coagulase-Negative Staphylococcal *Slime* Production and Adherence with the Development and Outcome of Adult Septicemias. J. Clin. Microbiol., 1990; 28(12): 2779-2785.
- Sewell, C.M., Clarridge, J.E., Young, E.J., Guthrie, R.K.: Clinical Significance of Coagulase-Negative Staphylococci. J. Clin. Microbiol., 1982; 16(2): 236-239.
- Younger, J.J., Christensen, G.D., Bartley, D.L., Simmons, J.C.H., Barrett, F.F.: Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Cerebrospinal Fluid Shunts: Importance of *Slime* Production, Species Identification, and Shunt Removal to Clinical Outcome. J. Infect. Dis., 1987; 156(4): 548-554.
- Aygen, B., Sehmen, E., Sümerkan, B., Doğanay, M.: Koagülaz Negatif Stafilokoklarda *Slime* Yapımı ve Aderans. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg., 1996; 26: 67-70.
- Bedidi-Madani, N., Greenland, T., Richard, Y.: Exoprotein and *Slime* Production by Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Goats' Milk. Vet. Microbiol., 1998; 59: 139-145.
- Birgersson, A., Jonsson, P., Holmberg, O.: Species Identification and Some Characteristics of Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Bovine Udders. Vet. Microbiol., 1992; 31: 181-189.
- Deinhofer, M., Pernthaner, A.: Staphylococcus spp. as Mastitis Related Pathogens in Goat Milk. Vet. Microbiol., 1995; 43: 161-166.

11. Holmberg, O.: Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis. Mardh, P.A. and Schleifer, K.H. (Ed). Coagulase-Negative Staphylococci. Almquist & Wiksell International, Stockholm, Sweden, 203-211, 1986.
12. Watts, J.L., Owens, W.E.: Synergistic Hemolysis Associated with Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Bovine Mammary Glands. J. Clin. Microbiol., 1987; 7: 173-176.
13. Keane, K.A., Taylor, D.J.: *Slime*-Producing Staphylococcus Species in Canine Pyoderma. Vet. Rec., 1992; 130: 75.
14. Gemmel, C.G.: Coagulase-Negative Staphylococci. J. Med. Microbiol., 1986; 22: 285-295.
15. Christensen, G.D., Simpson, W.A., Bisno, A.L. and Beachey, E.H.: Adherence of *Slime*-Producing Strains of *Staphylococcus epidermidis* to Smooth Surfaces. Infect. Immun., 1982; 37: 318-326.
16. Davenport, D.S., Massanari, R.M., Pfaller, M.A., Bale, M.J., Streed, S.A., Heirholzer, W.J.: Usefulness of a Test for *Slime* Production as a Marker for Clinically Significant Infections with Coagulase-Negative Staphylococci. J. Infect. Dis., 1986; 153: 332-339.
17. Janda, J.M.: Elastolytic Activity among Staphylococci. J. Clin. Microbiol., 1986; 24: 945-946.
18. Christensen, G.D., Parisi, J.T., Bisno, A.L., Simpson, W.A., Beachey, E.H.: Characterization of Clinically Significant Strains of Coagulase-Negative Staphylococci. J. Clin. Microbiol., 1983; 18: 258-269.
19. Hogt, A.H., Dankert, J., Feijen, J.: Encapsulation, *Slime* Production and Surface Hydrophobicity of Coagulase-Negative Staphylococci. FEMS Microbiol. Lett., 1983; 18: 211-215.
20. Gemmel, C.G., Thelestam, M.: Toxicogenicity of Clinical Isolates of Coagulase-Negative Staphylococci towards Various Animal Cells. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B, 1981; 89: 417-421.
21. Sloot, N., Marre, R., Gatermann, S.: Purification and Characterization of Elastase from *Staphylococcus epidermidis*. J. Med. Microbiol., 1991; 37: 201-205.
22. Christensen, G.D., Baddour, L.M., Madison, B.M., Parisi, J.T., Abraham, S.N., Hasty, D.L., Lowrance, J.H., Josephs, J.A., Simpson, W.A.: 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.
23. Quie, P.G., Belani, K.K.: Coagulase-Negative Staphylococcal Adherence and Persistence. J. Infect. Dis., 1987; 156(4): 543-547.
24. Diaz-Mitoma, F., Harding, G.K.M., Hoban, D.J., Roberts, R.S., Low, D.E.: Clinical Significance of a Test for *Slime* Production in Ventriculoperitoneal Shunt Infections Caused by Coagulase-Negative Staphylococci. J. Infect. Dis., 1987; 156: 555-560.
25. Christensen, G.D., Simpson, W.A., Younger, J.J., Baddour, L.M., Barrett, F.F., Melton, D.M., Beachey, E.H.: Adherence of Coagulase-Negative Staphylococci to Plastic Tissue Culture Plates: A Quantitative Model for the Adherence of Staphylococci to Medical Devices. J. Clin. Microbiol., 1985; 22: 996-1006.
26. Baddour, L.M., Smally, D.L., Kraus, A.P., Lamoreaux W.J., Christensen, G.D.: Comparison of Microbiologic Characteristics of Pathogenic and Saprophytic Coagulase-Negative Staphylococci from Patients on Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis. Diag. Microbiol. Infect. Dis., 1986; 5: 197-205.
27. Deighton, M.A., Franklin, J.C., Spicer, W.J., Balkau, B.: Species Identification, Antibiotic Sensitivity and *Slime* Production of Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Clinical Specimens. Epidem. Inf., 1988; 101: 99-113.
28. Hartstein, A.I., Valvano, M.A., Morthland, V.H., Fuchs, P.C., Potter, S.A., Crosa, J.H.: Antimicrobial Susceptibility and Plasmid Profile Analysis as Identity Tests for Multiple Blood Isolates of Coagulase-Negative Staphylococci. J. Clin. Microbiol., 1987; 25(4): 589-593.
29. Quinn, P.J., Carter, M.I., Markey, B.K., Carter, G.R.: Clinical Veterinary Microbiology. Wolf Publishing, Spain, 1994.