

Importancia médica del biofilm de *Staphylococcus epidermidis* en las infecciones de prótesis articular

Silvestre Ortega-Peña,* Rafael Franco-Cendejas*

* Laboratorio de Infectología,
Instituto Nacional de Rehabilitación.

Dirección para correspondencia:
Q. F. B. Silvestre Ortega Peña y
Dr. Rafael Franco Cendejas
Laboratorio de Infectología,
Instituto Nacional de Rehabilitación.
Calzada México-Xochimilco
Núm. 289,
Col. Arenal de Guadalupe, 14389,
Del. Tlalpan, México, D.F.
Tel: 59 99 10 00, ext. 14801
E-mail: silvestreortega@yahoo.
com.mx
raffcend@yahoo.com

Recibido: 19 de mayo de 2014.
Aceptado: 11 de julio de 2014.

Este artículo puede ser consultado
en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Palabras clave: Prótesis articular, *Staphylococcus epidermidis*, biopelícula.

Key words: Prosthetic joints, *Staphylococcus epidermidis*, biofilm.

Resumen

El remplazo articular es un procedimiento quirúrgico que se realiza en pacientes con desgaste articular. Esta cirugía les ayuda a mejorar su movilidad y calidad de vida; sin embargo, en algunos casos puede causar complicaciones. La infección de prótesis articular es la complicación más seria y catastrófica que se puede presentar después de un procedimiento de remplazo articular. El agente etiológico más frecuente en este tipo de infecciones es *Staphylococcus epidermidis*. Las infecciones de prótesis articular que causa *S. epidermidis* generalmente son crónicas y persistentes debido a que se encuentra en forma de biopelícula. Esta biopelícula sirve como una barrera, ya que protege a las células bacterianas de la acción de los antibióticos y de la respuesta inmune del huésped. La formación de la biopelícula es un proceso complejo que ocurre en cuatro fases. El mejor entendimiento de la fisiopatología de las infecciones causadas por microorganismos productores de biopelícula ayuda a buscar estrategias terapéuticas más efectivas.

Abstract

Joint replacement is a surgical procedure performed in patients with articular wear. This surgery helps them to improve their mobility and quality of life; however, it can cause complications in some cases. Prosthetic joint infection is the most serious and catastrophic complication that may occur after a joint replacement procedure. The most common etiologic agent in these infections is *Staphylococcus epidermidis*. Prosthetic joint infections that are caused by *S. epidermidis* are usually chronic and persistent because these microorganisms are found as a biofilm. This biofilm is a barrier that protects the bacterial cells from the action of antibiotics and the host's immune response. The formation of the biofilm is a complex process that occurs in four phases. Better understanding of the pathophysiology of infections caused by biofilm-producing microorganisms can help to find more effective therapeutic strategies.

Introducción

En las últimas décadas, se ha incrementado en el mundo la demanda de procedimientos de remplazo articular, principalmente en países industrializados donde la expectativa de vida es mucho mayor.¹ De acuerdo con una proyección formulada por Kurtz y colaboradores, se calcula que para el 2030 la demanda anual de artroplastias de cadera en los Estados Unidos será de 572,000 y 3.48 millones para artroplastias de rodilla.²

La colocación de una prótesis articular es una opción terapéutica para aliviar el dolor crónico y mejorar

la movilidad y calidad de vida de los pacientes que sufren desgaste en las articulaciones; sin embargo, en algunos casos la implantación del material protésico puede ocasionar complicaciones.^{3,4} La infección de prótesis articular es la complicación más seria y catastrófica que se puede presentar después de un procedimiento de remplazo articular.⁵

Actualmente, se calcula que las infecciones de prótesis articulares en el mundo tienen una frecuencia del 1 al 2.5% en artroplastias primarias de cadera y rodilla, y de 7.5 a 14.8% en artroplastias de revisión.^{6,7} En México, no existen datos epidemiológicos a nivel nacional relacionados con este tipo de

infecciones; sin embargo, existen series hospitalarias que estiman una frecuencia de infecciones por artroplastias primarias de cadera de hasta 8.4%, y de 3% en artroplastias de revisión.^{8,9} En cuanto a las artroplastias primarias de rodilla, se estiman entre el 3.7 y 4.3%, por arriba de las recomendaciones internacionales del 2%.^{10,11}

Las infecciones de prótesis articular se asocian generalmente con la contaminación del material protésico con bacterias de la piel, las cuales pueden ser inoculadas durante la cirugía, vía hematógena o por pérdida de la continuidad de la piel cuando se presenta un proceso infeccioso en los tejidos blandos que circundan a la misma.¹² Entre las bacterias de piel que se aíslan con mayor frecuencia están *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), siendo este último el más importante en infecciones por remplazo articular de cadera y rodilla. Datos epidemiológicos a nivel mundial estiman que del 30 al 47% de este tipo de infecciones son causadas por *S. epidermidis*.^{13,14}

S. epidermidis es un patógeno oportunista importante, principalmente en pacientes que presentan inmunocompromiso o aquéllos a quienes se les han implantado dispositivos médicos como catéteres intravasculares, válvulas cardíacas o prótesis articulares.¹⁵ Las infecciones que causa *S. epidermidis* son crónicas y persistentes por su capacidad de formar biopelícula en superficies bióticas y abióticas.¹⁶ La biopelícula es una comunidad bacteriana que se encuentra embebida dentro de una matriz extracelular que las bacterias autoproducen, y que se compone de polisacáridos, proteínas y DNA extracelular (DNAe), principalmente (Figura 1).¹⁷ La formación de toda esta estructura sobre la superficie de los dispositivos médicos permite que las bacterias se adhieran de manera irreversible, además de que las protege de la acción de los antibióticos y de la respuesta inmune del huésped, por lo que la erradicación de las infecciones causadas con microorganismos formadores de biopelícula es compleja y difícil de tratar.^{18,19}

En este artículo hacemos una revisión extensa sobre la formación de la biopelícula por *S. epidermidis* y la importancia médica que tiene la misma en infecciones de prótesis articular.

Características microbiológicas de *S. epidermidis*

S. epidermidis es un coco Gram positivo que microscópicamente se observa como racimos de uvas; a

diferencia de *S. aureus*, esta bacteria no produce la enzima coagulasa. *S. epidermidis* generalmente es una bacteria inocua, ya que forma parte de la microbiota de la piel y mucosas de los mamíferos, pero bajo ciertas circunstancias, algunas cepas pueden actuar como patógenos oportunistas. Hasta el momento, el principal factor de virulencia que se le conoce a esta bacteria es la capacidad de formar biopelícula en distintas superficies y materiales.²⁰

Formación de la biopelícula

El proceso de formación de la biopelícula por *S. epidermidis* se lleva a cabo en cuatro fases: 1) fijación, 2) acumulación, 3) maduración y 4) dispersión (Figura 2).²¹ En cada una de éstas, ocurren interacciones entre proteínas y moléculas de naturaleza polimérica, principalmente, las cuales se expresan y regulan dependiendo de las características nutricionales del medio en donde se está formando la biopelícula y por densidad bacteriana.²²

Fijación

Este es el inicio en la formación de la biopelícula por *S. epidermidis*, y ocurre en dos etapas: adsorción y adhesión de las bacterias sobre una superficie.²³ En la adsorción, hay interacciones inespecíficas y reversibles entre las células bacterianas y las superficies. Estas interacciones son por fuerzas fisicoquímicas

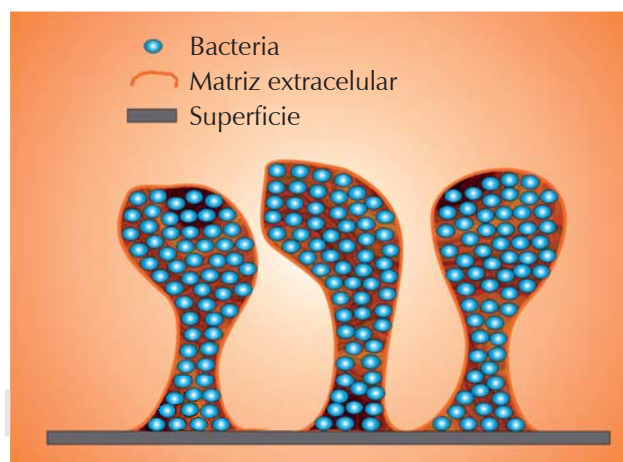


Figura 1. Representación gráfica de la estructura de la biopelícula sobre una superficie. Las células bacterianas se encuentran acomodadas dentro de una matriz extracelular que está compuesta por polisacáridos, proteínas y DNA extracelular.

como Van der Waals, gravitacionales, electrostáticas, hidrofóbicas y movimientos brownianos.²⁴ Lo siguiente que ocurre es la adhesión de las bacterias a la superficie, lo que es específico e irreversible. Cuando los dispositivos médicos son implantados, inmediatamente se recubren con proteínas plasmáticas, las cuales pueden ser reconocidas por componente de la pared bacteriana y formar uniones covalentes. Los componentes que realizan este proceso se conocen como «componentes microbianos de superficie que reconocen moléculas de matriz adhesiva» (MSCRAMMs, por sus siglas en inglés: Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules).²⁵ *S. epidermidis* posee decenas de MSCRAMMs que interactúan con proteínas de la matriz extracelular, pero las más importantes son SdrG/Fbe, Embp, AtlE, Aap y GehD, que se unen a fibrinógeno, fibronectina, vitronectina y colágena, respectivamente.^{26,27}

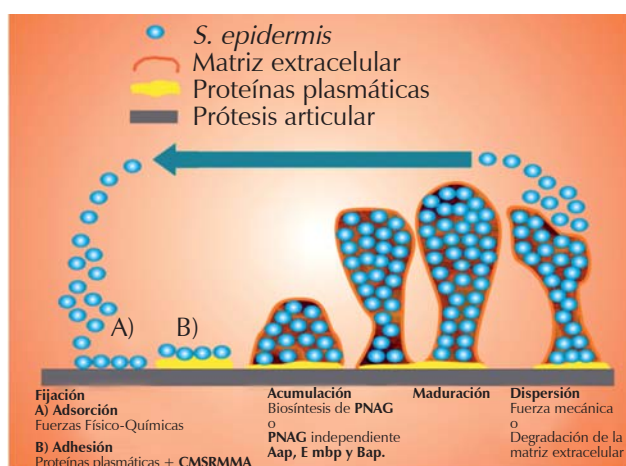


Figura 2. Fases de formación de la biopelícula por *S. epidermidis*. La **fijación** de las células bacterianas en las superficies ocurre en dos pasos: A) Adsorción, mediante fuerzas físico-químicas, y B) Adhesión, unión de proteínas plasmáticas y los componentes microbianos que reconocen moléculas de matriz adhesiva (CMSRAMMA). **Acumulación**, ya sea por la biosíntesis del poli-N-acetilglucosamina (PNAG) o por el mecanismo PNAG-independiente, el cual consiste en la expresión de las proteínas: (Aap) proteína que se asocia a la acumulación, (Embp) proteína de unión a la matriz extracelular y (Bap) proteína asociada al biofilm. **Maduración**, cuando se forma la estructura del biofilm. **Dispersión**, la cual consiste en desprendimiento de la célula bacteriana; este desprendimiento puede ser mecánico o por la degradación de la matriz extracelular con proteasas, nucleasas y moléculas con propiedad surfactante.

Acumulación o agregación

La acumulación es la fase más importante durante el desarrollo de la biopelícula de *S. epidermidis*. Las células bacterianas que se han logrado adherir de manera covalente a la superficie de los materiales empiezan a multiplicarse y a formar pequeños agregados bacterianos. La cercanía que se percibe entre estos agregados genera señales químicas que corresponden a metabolitos secundarios, los cuales sirven como activadores del sistema quorum sensing. Este sistema es un mecanismo de señalización química que utilizan las bacterias para comunicarse dentro de una comunidad.²⁸ Las señales químicas que detecta este sistema pueden alterar y regular la expresión génica de las bacterias.²⁹ Durante la acumulación, el quorum sensing induce la expresión de los genes que codifican para las moléculas que componen la matriz extracelular de la biopelícula de *S. epidermidis*. Una de estas moléculas es el polisacárido de adhesión intercelular, también conocido como poli-N-acetilglucosamina (PNAG),³⁰ el cual es un polisacárido de aproximadamente 780 kDa que sirve para que las bacterias puedan agregarse y adherirse entre ellas. Para que ocurra la biosíntesis de PNAG, se necesita de cuatro enzimas, cuyos genes se encuentran dentro del operón icaADBC.³¹ IcaA e IcaD son proteínas transmembranales que trabajan en conjunto para sintetizar oligómeros de PNAG en el citosol. IcaC es una proteína de membrana que realiza el transporte de los oligómeros de PNAG que se sintetizaron en el citosol hacia la membrana externa. IcaB es una proteína que se encuentra en la pared bacteriana, su función es desacetilar los oligómeros de PNAG; esto significa que introduce una carga positiva en los oligómeros de PNAG.³² La desacetilación es el paso crucial durante la biosíntesis de PNAG, ya que el cambio de carga sirve para la interacción electrostática con la pared de otra bacteria.³³

En los primeros años de investigación sobre el proceso de formación de la biopelícula por *S. epidermidis*, se creía que la presencia del operón icaADBC podía ser utilizada como un marcador genético de virulencia, ya que se había observado que los *S. epidermidis* que se encontraban como colonizantes en piel no lo poseían y, como consecuencia, no tenían la capacidad de formar biopelícula, a diferencia de aislados clínicos que la formaban y que causaban infecciones relacionadas con dispositivos médicos. Sin embargo, actualmente se sabe que existe un número reducido de *S. epidermidis* que no poseen el operón icaADBC y que son productores de biopelícula.³⁴ Estos *S. epidermidis* llevan a cabo la formación de la misma

por un mecanismo alterno, el cual es conocido como PNAG-independiente. El mecanismo alterno utiliza moléculas de naturaleza proteica durante la acumulación bacteriana.³⁵ Hasta el momento, las principales proteínas que se han reconocido como mediadores de PNAG-independiente son (Aap) proteína que se asocia con la acumulación, (Embp) proteína de unión a la matriz extracelular y (Bap) proteína asociada al biofilm.³⁶

Además del PNAG y las proteínas de PNAG-independiente, también existen otras moléculas que son importantes durante la acumulación bacteriana; éstas son los ácidos teicóicos y el DNAe, que tienen la capacidad de interactuar electrostáticamente con el PNAG.³⁷ EL DNAe en la estructura de la biopelícula ha sido motivo de una intensa investigación en los últimos años debido a que no es muy claro cuáles son los mecanismos de señalización molecular que dan origen a la liberación de DNA; sin embargo, por experimentos in vitro se ha podido establecer que este DNAe es importante para dar una consistencia mucho más rígida a la estructura final de la biopelícula, además de que sirve para transmitir genes de resistencia entre las células bacterianas.³⁸

Maduración

La maduración de la biopelícula es cuando ésta adquiere una estructura tridimensional en forma de torre, además de que a su alrededor se forman y observan canales de agua que sirven para la absorción de nutrientes y oxígeno del exterior, así como para desalojar productos metabólicos que se acumulan en el interior de la biopelícula, los cuales se generan dos por las células bacterianas.³⁹ Otro fenómeno importante que ocurre en la maduración es la alteración del metabolismo bacteriano, el cual suele inactivarse.⁴⁰

Dispersión

La última fase del proceso de formación de la biopelícula es la dispersión de la misma. Ésta es de las principales causas de que las infecciones de prótesis articular sean persistentes, ya que por fuerzas mecánicas o degradación de la matriz extracelular, las células bacterianas que se encuentran en la biopelícula son desprendidas en forma unicelular o en agregados. Este desprendimiento permite que las bacterias migren a otros sitios e inicien la formación de biopelícula en una nueva superficie.⁴¹

La degradación de la matriz extracelular es un proceso complejo que ocurre en dos pasos; en el primero de ellos,

las bacterias se activan metabólicamente, y en el segundo, ocurre la expresión de genes que codifican para moléculas que pueden degradar la matriz extracelular. Esta expresión se encuentra regulada por el gen accesorio regulador (*agr*, por sus siglas en inglés: *accessory gene regulator*) del quorum sensing de *Staphylococcus spp.*⁴² Cuando se ha alcanzado una alta densidad bacteriana en el interior de la biopelícula o hay carencia de nutrientes en el medio donde se formó esta misma, el gen *agr* induce la expresión de proteasas, nucleasas y moléculas con propiedades surfactantes que solubilizan los componentes de la matriz extracelular y permiten el desprendimiento de las bacterias de la biopelícula.⁴³

El papel de la biopelícula de *S. epidermidis* en infecciones de prótesis articular

Como ya se mencionó al inicio de este artículo, una característica importante de las infecciones que causa *S. epidermidis* es que son crónicas y persistentes. Esto se debe a que en algunos casos, ocurre la formación de biopelícula, la cual sirve como un mecanismo de defensa contra la acción de los antibióticos y los componentes de la respuesta inmune del huésped.^{44,45}

En cuanto a la acción de los antibióticos, por estudios de susceptibilidad in vitro, se ha demostrado que las células bacterianas que forman biopelícula son hasta 1,000 veces más resistentes que las que se encuentran en estado plantónico.⁴⁶ Esta alta resistencia se asocia principalmente con tres fenómenos: repulsión de los antibióticos, tolerancia a los mismos y resistencia bacteriana. En el primer fenómeno, la matriz extracelular de la biopelícula, por su naturaleza química, tiene la capacidad de repeler o disminuir la difusión de los antibióticos a través de la misma; esto ocasiona que los antibióticos lleguen a las células bacterianas en concentraciones subinhibitorias. Estas concentraciones inducen la expresión de mecanismos de resistencia, como, por ejemplo, bombas de eflujo y enzimas que degradan a los antibióticos. Las bombas de eflujo son proteínas de membrana que utilizan las bacterias para expulsar los antibióticos del citosol e impedir que los antibióticos lleguen a su sitio blanco.^{47,48} En el caso particular de *S. epidermidis*, uno de los antibióticos que tienen efectividad contra cepas productoras de biopelícula es rifampicina; sin embargo, en algunos casos, el uso de dicho antibiótico puede fallar, ya que los *S. epidermidis* adquieren rápidamente resistencia al mismo cuando se administra como monoterapia, por lo que, para inhibir este efecto, las guías clínicas recomiendan usarlo en terapias combinadas.⁴⁹

El segundo fenómeno que impide que los antibióticos sean efectivos es la tolerancia a los mismos; la cual es producto de la poca actividad metabólica que presentan las bacterias dentro de la biopelícula. Al no haber un metabolismo activo, los antibióticos no pueden ejercer acción sobre sus sitios blanco.⁵⁰ Estudios con microscopia láser con focal han evidenciado que dentro de la estructura de la biopelícula existen poblaciones bacterianas con diferente actividad metabólica.⁵¹ Generalmente, las células bacterianas que se encuentran en la parte más externa de la biopelícula son metabólicamente más activas, mientras que las que están en la parte más interna presentan un metabolismo mucho más lento o completamente inactivo. Esta diversidad metabólica da como consecuencia una alta tolerancia a los antibióticos.⁵²

El creciente problema de la resistencia bacteriana por el uso indiscriminado de los antibióticos a nivel mundial ha dado como consecuencia que los *S. epidermidis* sean resistentes a múltiples antibióticos.⁵³ Estudios epidemiológicos sobre la resistencia bacteriana estiman que a nivel global, entre el 70 y 90% de los aislados clínicos de *S. epidermidis* son resistentes a meticilina. Altos niveles de resistencia también se han documentado para aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclina, cloranfenicol y clindamicina. Este fenómeno de la alta resistencia a los antibióticos es el más importante para que en la mayoría de los casos el tratamiento antimicrobiano no sea efectivo.⁵⁴

Además de la poca acción de los antibióticos contra *S. epidermidis* formadores de biopelícula, otro factor que también se ha asociado con la difícil erradicación es que las células bacterianas se encuentran protegidas de la respuesta inmune del huésped. Esta protección se la otorga el PNAG que se biosintetiza durante la fase de acumulación. Diversos experimentos han demostrado que el PNAG es una molécula que tiene la capacidad de inactivar macrófagos, leucocitos polimorfonucleares, así como impedir la unión de los péptidos antimicrobianos.^{55,56} Otro punto relevante con respecto a la respuesta inmune es el desarrollo de respuesta inflamatoria crónica, la cual es consecuencia de una constante atracción y activación de los neutrófilos.⁵⁷ Durante la maduración de la biopelícula de *S. epidermidis*, el gen *agr* induce la expresión de moléculas conocidas como modulinas fenil solubles (PMS, por sus siglas en inglés: Phenol Soluble Modulins), las cuales tienen actividad proinflamatoria y quimiotáctica.⁵⁸ En las infecciones de prótesis articular, el desarrollo de una inflamación crónica origina necrosis de tejidos blandos y del hueso, siendo esta última la causa más

importante para que se pierda la prótesis articular por aflojamiento.⁵⁹

Diagnóstico microbiológico

Uno de los grandes retos en las infecciones de prótesis articular es el diagnóstico microbiológico. Actualmente, los laboratorios utilizan el cultivo de líquido sinovial y tejido periprotésico como el estándar de oro para realizar el diagnóstico microbiológico de una infección relacionada con prótesis articular; sin embargo, éste puede dar falsos positivos (entre 5 y 13%) y falsos negativos (entre 2 y 18%). Esta amplia variación en los resultados se ve influenciada por la administración de antibióticos antes de la toma de las muestras, el transporte de las mismas y la formación de biopelícula sobre la prótesis articular; esta última es la más importante.⁶⁰ Para tratar de disminuir esta variación de los resultados, se han diseñado varias estrategias; entre las más frecuentes y accesibles para los laboratorios de microbiología, está la sonicación de prótesis articular. Esta técnica fue descrita por primera vez por Tunney y colaboradores, y después fue mejorada por Trampuz y su equipo.^{61,62} En general, este procedimiento se basa en que las prótesis articulares que son retiradas por sospecha de aflojamiento séptico deben ser sometidas a sonicación con solución salina durante cinco minutos a una longitud de onda de 40 kHz con la finalidad de desprender las bacterias de la prótesis articular y poderlas cultivar en los medios de cultivo convencionales.⁶³ Otras estrategias que también se han aplicado para tratar de mejorar el diagnóstico microbiológico son la optimización y condiciones de cultivo, ya que al disgregar la biopelícula con la sonicación se espera que las células bacterianas estén metabólicamente inactivas y sean mucho más difíciles de cultivar.⁶⁴ En un intento de subsanar estos problemas, durante los últimos años se han tratado de implementar técnicas moleculares como la amplificación del gen 16S; sin embargo, hasta el momento, muchas de las publicaciones que usan esta técnica para diagnosticar infecciones de prótesis articular no han podido demostrar su utilidad y recomiendan su aplicación únicamente en los casos donde no se obtenga un resultado positivo; además, estos métodos siempre se deben acompañar con la clínica de cada uno de los pacientes.^{65,66}

Perspectivas a futuro para inhibir y disgregar el biofilm

Hasta ahora, el tratamiento y erradicación de una infección de prótesis articular por *S. epidermidis*

formadores de biopelícula es compleja, ya que no hay muchas opciones terapéuticas efectivas. Por lo tanto, desde hace una década, muchos grupos de investigación alrededor del mundo se han dado a la tarea de entender el mecanismo de formación de la biopelícula, identificar qué moléculas son las que coordinan todo este proceso y cuáles son los principales componentes de la biopelícula; todo para buscar opciones terapéuticas más efectivas.⁶⁷ Actualmente, se ha podido desarrollar una vacuna que ha demostrado in vitro inhibir la adhesión de las células bacterianas en las superficies mediante el bloque de los MSCRAMMs.⁶⁸ Otro de los avances importantes que se han logrado es el descubrimiento de enzimas y moléculas que pueden degradar la matriz extracelular.⁶⁹ De las perspectivas que se tienen a futuro es desarrollar e identificar moléculas que tengan acción a nivel del quorum sensing, esto basado en el principio de que muchas de las moléculas que se utilizan durante la formación del biofilm son gobernadas por este sistema de comunicación bacteriana. En el área de biomateriales, se está intentando diseñar un implante articular inteligente, que sea capaz de biosensar las células bacterianas. Cuando el implante detecte a las bacterias en su superficie, liberará compuestos que inhiban la adhesión bacteriana, enzimas que disgreguen el biofilm y antibióticos para erradicar a las bacterias que estén en estado plantónico.⁷⁰

Conclusión

La capacidad de *S. epidermidis* de formar biopelícula en distintas superficies es el principal factor de virulencia que posee esta bacteria; su formación es compleja y se encuentran involucradas una cantidad importante de moléculas. En el área médica, la formación de biopelícula por *S. epidermidis* es muy importante, ya que causa infecciones crónicas y persistentes; por lo tanto, la investigación básica ha intentado entender desde hace varios años su proceso de formación para buscar posibles blancos terapéuticos, moléculas que inhiban su formación o la disgreguen, todo con la finalidad de que los pacientes que presenten una infección por este tipo de bacterias no sufran de efectos adversos ni de las secuelas físicas que pueden ser generadas.

Bibliografía

1. Singh JA. Epidemiology of knee and hip arthroplasty: a systematic review. *Open Orthop J*. 2011; 16 (5): 80-85.
2. Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am*. 2007; 89 (4): 780-785.
3. Daigle ME, Weinstein AM, Katz JN, Losina E. The cost-effectiveness of total joint arthroplasty: a systematic review of published literature. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2012; 26 (5): 649-658.
4. Haanstra TM, van den Berg T, Ostelo RW et al. Systematic review: do patient expectations influence treatment outcomes in total knee and total hip arthroplasty? *Health Qual Life Outcomes*. 2012; 18 (10): 152.
5. Fernandes A, Dias M. The microbiological profiles of infected prosthetic implants with an emphasis on the organisms which form biofilms. *J Clin Diagn Res*. 2013; 7 (2): 219-223.
6. Shapiro IM, Hickok NJ, Parvizi J, Stewart S, Schaer TP. Molecular engineering of an orthopaedic implant: from bench to bedside. *Eur Cell Mater*. 2012; 24 (23): 362-370.
7. Sadoghi P, Liebensteiner M, Agreiter M, Leithner A, Böhler N, Labek G. Revision surgery after total joint arthroplasty: a complication-based analysis using worldwide arthroplasty registers. *J Arthroplasty*. 2013; 28 (8): 1329-1332.
8. Alegre-Rico F, Orozco CI. Infección en la artroplastia total de cadera primaria. *Acta Ortopédica Mexicana*. 2004; 18 (6): 235-239.
9. Trueba DC, Gil OF, Reyes MF, Minueza MT, Navarrete ÁJM. Reconstrucción acetabular en la artroplastia de revisión. Estudio retrospectivo de 76 casos. *Hospital Español de México. Acta Ortopédica Mexicana*. 2007; 21 (4): 182-188.
10. Chaidez RPA, Ilizaliturri SV, Valero GF, Lehmann MR, León HSR, Aguilera ZJM. Factores de riesgo y manejo de la infección en la artroplastia total de la rodilla. *Acta Ortop Mex*. 2001; 15 (5): 207-210.
11. Labek G, Todorov S, Iovanescu L, Stoica CI, Böhler N. Outcome after total ankle arthroplasty –results and findings from worldwide arthroplasty registers. *Int Orthop*. 2013; 37 (9): 1677-1682.
12. Kurtz SM, Lau E, Schmier J, Ong KL, Zhao K, Parvizi J. Infection burden for hip and knee arthroplasty in the United States. *J Arthroplasty*. 2008; 23 (7): 984-991.
13. Widmer AF. New developments in diagnosis and treatment of infection in orthopedic implants. *Clin Infect Dis*. 2001; 1 (33): 94-106.
14. Montanaro L, Speziale P, Campoccia D et al. Scenery of *Staphylococcus* implant infections in orthopedics. *Future Microbiol*. 2011; 6 (11): 1329-1349.
15. O'Gara JP, Humphreys H. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. *J Med Microbiol*. 2001; 50 (7): 582-587.
16. Otto M. *Staphylococcus epidermidis* -the "accidental" pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7 (8): 555-567.
17. Vlamakis H. The world of biofilms. *Virulence*. 2011; 2 (5): 431-434.
18. Bjarnsholt T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS Suppl*. 2013; 136: 1-51.
19. Costerton JW, Post JC, Ehrlich GD et al. New methods for the detection of orthopedic and other biofilm infec-

- tions. FEMS Immunol Med Microbiol. 2011; 61 (2): 133-140.
20. Uçkay I, Harbarth S, Ferry T et al. Methicillin resistance in orthopaedic coagulase-negative staphylococcal infections. J Hosp Infect. 2011; 79 (3): 248-253.
21. Arciola CR, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton JW. Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. Biomaterials. 2012; 33 (26): 5967-5982.
22. Fey PD, Olson ME. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. Future Microbiol. 2010; 5 (6): 917-933.
23. Ribeiro M, Monteiro FJ, Ferraz MP. Infection of orthopedic implants with emphasis on bacterial adhesion process and techniques used in studying bacterial-material interactions. Biomater. 2012; 2 (4): 176-194.
24. Castrillón-Rivera LE, Palma-Ramos A, Padilla-Desgarennes MC. Importancia de las biopelículas en la práctica médica. Dermatología Rev Mex. 2010; 54 (1): 14-24.
25. Otto M. Staphylococcal biofilms. Curr Top Microbiol Immunol. 2008; 322: 207-228.
26. Vadyvaloo V, Otto M. Molecular genetics of *Staphylococcus epidermidis* biofilms on indwelling medical devices. Int J Artif Organs. 2005; 28 (11): 1069-1078.
27. Von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. Lancet Infect Dis. 2002; 2 (11): 677-685.
28. Yarwood JM, Schlievert PM. Quorum sensing in *Staphylococcus* infections. J Clin Invest. 2003; 112 (11): 1620-1625.
29. Reading NC, Sperandio V. Quorum sensing: the many languages of bacteria. FEMS Microbiol Lett. 2006; 254 (1): 1-11.
30. Nayak N, Satpathy G, Nag HL et al. Slime production is essential for the adherence of *Staphylococcus epidermidis* in implant-related infections. J Hosp Infect. 2011; 77 (2): 153-156.
31. Rohde H, Burandt EC, Siemssen N et al. Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. Biomaterials. 2007; 28 (9): 1711-1720.
32. Cue D, Lei MG, Lee CY. Genetic regulation of the intercellular adhesion locus in staphylococci. Front Cell Infect Microbiol. 2012; 26: 2: 38.
33. Fluckiger U, Ulrich M, Steinhuber A et al. Biofilm formation, icaADBC transcription, and polysaccharide intercellular adhesin synthesis by staphylococci in a device-related infection model. Infect Immun. 2005; 73 (3): 1811-1819.
34. Qin Z, Yang X, Yang L, Jiang J, Ou Y et al. Formation and properties of in vitro biofilms of ica-negative *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates. J Med Microbiol. 2007; 56: 83-93.
35. Fitzpatrick F, Humphreys H, O'Gara JP. Evidence for icaADBC-independent biofilm development mechanism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. J Clin Microbiol. 2005; 43 (4): 1973-1976.
36. O'Gara JP. Ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol Lett. 2007; 270 (2): 179-188.
37. Sadvovskaya I, Vinogradov E, Flahaut S, Kogan G, Jabbouri S. Extracellular carbohydrate-containing polymers of a model biofilm-producing strain, *Staphylococcus epidermidis* RP62A. Infect Immun. 2005; 73 (5): 3007-3017.
38. Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. Science. 2002; 295 (5559): 1487.
39. Nadell CD, Xavier JB, Foster KR. The sociobiology of biofilms. FEMS Microbiol Rev. 2009; 33 (1): 206-224.
40. McCann MT, Gilmore BF, Gorman SP. *Staphylococcus epidermidis* device-related infections: pathogenesis and clinical management. J Pharm Pharmacol. 2008; 60 (12): 1551-1571.
41. Götz F. *Staphylococcus* and biofilms. Mol Microbiol. 2002; 43 (6): 1367-1378.
42. Vuong C, Gerke C, Somerville GA, Fischer ER, Otto M. Quorum-sensing control of biofilm factors in *Staphylococcus epidermidis*. J Infect Dis. 2003; 188 (5): 706-718.
43. Boles BR, Horswill AR. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms. PLoS Pathog. 2008; 254 4 (4) : e1000052.
44. Zimmerli W, Moser C. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012; 65 (2): 158-168.
45. Rodríguez-Martínez JM, Pascual A. Activity of antimicrobial agents on bacterial biofilms. Enferm Infect Microbiol Clin. 2008; 26 (2): 107-114.
46. Johnjuly W, Fuge LH, Kad M, Post C. Introduction to biofilms in family medicine. South Med J. 2012; 105 (1): 24-29.
47. Singh R, Ray P, Das A, Sharma M. Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. J Antimicrob Chemother. 2010; 65 (9): 1955-1958.
48. Van Hoek AH, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, Aarts HJ. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. Front Microbiol. 2011; 28 (2): 203.
49. Gomes F, Teixeira P, Ceri H, Oliveira R. Evaluation of antimicrobial activity of certain combinations of antibiotics against in vitro *Staphylococcus epidermidis* biofilms. Indian J Med Res. 2012; 135 (4): 542-547.
50. Grant SS, Hung DT. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. Virulence. 2013; 15 (4): 273-283.
51. Allison KR, Brynildsen MP, Collins JJ. Heterogeneous bacterial persisters and engineering approaches to eliminate them. Curr Opin Microbiol. 2011; 14 (5): 593-598.
52. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat Rev Drug Discov. 2003; 2 (2): 114-122.
53. Du X, Zhu Y, Song Y et al. Molecular analysis of *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from commu-

- nity and hospital environments in China. PLoS One. 2013; 8 (5): e62742.
54. Otto M. Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. Semin Immunopathol. 2012; 34 (2): 201-214.
55. Rohde H, Frankenberger S, Zähringer U, Mack D. Structure, function and contribution of polysaccharide intercellular adhesin (PIA) to *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and pathogenesis of biomaterial-associated infections. Eur J Cell Biol. 2010; 89 (1): 103-111.
56. Spiliopoulou AI, Krevvata MI, Kolonitsiou F et al. An extracellular *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide: relation to polysaccharide intercellular adhesin and its implication in phagocytosis. BMC Microbiol. 2012; 12: 76.
57. Vuong C, Dürr M, Carmody AB, Peschel A, Klebanoff SJ, Otto M. Regulated expression of pathogen-associated molecular pattern molecules in *Staphylococcus epidermidis*: quorum-sensing determines pro-inflammatory capacity and production of phenol-soluble modulins. Cell Microbiol. 2004; 6 (8): 753-759.
58. Otto M. Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. Annu Rev Med. 2013; 64: 175-188.
59. Montanaro L, Testoni F, Poggi A, Visai L, Speziale P, Arciola CR. Emerging pathogenetic mechanisms of the implant-related osteomyelitis by *Staphylococcus aureus*. Int J Artif Organs. 2011; 34 (9): 781-788.
60. Parvizi J, Jacovides C, Zmistowski B, Jung KA. Definition of periprosthetic joint infection: is there a consensus? Clin Orthop Relat Res. 2011; 469 (11): 3022-3030.
61. Tunney MM, Patrick S, Gorman SP et al. Improved detection of infection in hip replacements. A currently underestimated problem. J Bone Joint Surg Br. 1998; 80 (4): 568-572.
62. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. N Engl J Med. 2007; 357 (7): 654-663.
63. Portillo ME, Salvadó M, Trampuz A et al. Sonication versus vortexing of implants for diagnosis of prosthetic joint infection. J Clin Microbiol. 2013; 51 (2): 591-594.
64. Larsen LH, Lange J, Xu Y, Schönheyder HC. Optimizing culture methods for diagnosis of prosthetic joint infections: a summary of modifications and improvements reported since 1995. Med Microbiol. 2012; 61: 309-316.
65. Gomez E, Cazanave C, Cunningham SA et al. Prosthetic joint infection diagnosis using broad-range PCR of biofilms dislodged from knee and hip arthroplasty surfaces using sonication. J Clin Microbiol. 2012; 50 (11): 3501-3508.
66. Marín M, Garcia-Lechuz JM, Alonso P et al. Role of universal 16S rRNA gene PCR and sequencing in diagnosis of prosthetic joint infection. J Clin Microbiol. 2012; 50 (3): 583-589.
67. Francolini I, Donelli G. Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. FEMS Immunol Med Microbiol. 2010; 59 (3): 227-238.
68. Shahrooei M, Hira V, Khodaparast L et al. Vaccination with SesC decreases *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation. Infect Immun. 2012; 80 (10): 3660-3668.
69. Kaplan JB. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. J Dent Res. 2010; 89 (3): 205-218.
70. Vergidis P, Patel R. Novel approaches to the diagnosis, prevention, and treatment of medical device-associated infections. Infect Dis Clin North Am. 2012; 26 (1): 173-186.