



ARTIGO ORIGINAL

Staphylococcus sp. coagulase-negativa em hemoculturas de pacientes com menos de sessenta dias de idade: infecção versus contaminação

Coagulase-negative Staphylococcus sp. in blood cultures from infants less than 60 days old: infection versus contamination

Suzane Silbert¹, Daniela D. Rosa², Ursula Matte³, José R. Goldim⁴,
Susana H. Barcellos⁵, Renato S. Procianoy⁶

Resumo

Objetivo: O presente estudo teve como objetivo determinar a prevalência de infecção *versus* contaminação em pacientes com menos de 60 dias de vida, que possuíram hemoculturas positivas para *Staphylococcus sp. coagulase negativa*.

Material e Métodos: Foram estudadas 45 hemoculturas positivas para essa bactéria de 41 pacientes, no período de 1º de fevereiro a 31 de julho de 1993. Conforme informações clínicas e laboratoriais obtidas através da revisão dos prontuários, os pacientes foram separados em 3 grupos: I - pacientes infectados, II - pacientes não infectados e III - casos duvidosos.

Resultados: Os resultados mostraram que 11 pacientes (26,8%) pertenciam ao grupo I, 25 (61%) pertenciam ao grupo II (hemoculturas contaminadas) e 5 (12,2%), ao grupo III.

Conclusão: Sugere-se que a conduta ideal para uma suspeita de bacteremia por *Staphylococcus sp. coagulase negativa* é incluir mais de uma hemocultura antes do início do tratamento antimicrobiano, evitando o emprego indiscriminado de antibióticos.

J. pediatr. (Rio J.). 1997; 73(3):161-165: Staphylococcus sp. coagulase negativa, hemoculturas, bacteremia, infecção neonatal.

Introdução

Microorganismos patogênicos, como bactérias, fungos, vírus e parasitas podem ser isolados na corrente sanguínea durante o curso de uma infecção. Denomina-se septicemia quando há dano ao hospedeiro, e bacteremia a

Abstract

Objective: The aim of this study was to determine the prevalence of infection *versus* the prevalence of contamination in infants less than 60 days old who had blood cultures positive for CoNS.

Material and Methods: Between February and June - 1993, a number of 45 blood cultures positive for CoNS from 41 patients were studied. Patients were classified in three groups according to their clinical and laboratorial data: I- infected patients, II- non-infected patients and III- dubious.

Results: The results showed that 11 patients (26.8%) were included in group I, 25 (61%) in group II (contaminated blood cultures), and 5 (12.2%) in group III.

Conclusion: It is suggested that more than one blood culture should be requested before treatment with antimicrobials, avoiding unnecessary administration of antibiotics.

J. pediatr. (Rio J.). 1997; 73(3):161-165: Coagulase-Negative Staphylococcus sp., blood cultures, bacteremia, neonatal infection.

simples presença de bactérias na corrente sanguínea, relacionada ou não a algum processo infeccioso¹⁻³.

Durante a última década, o *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* surgiu como uma bactéria fortemente associada a septicemias em Unidades de Tratamento Intensivo. Tais microorganismos são bactérias Gram-positivas, comumente encontradas como habitantes da pele, da cabeça e dos membros superiores e inferiores, bem como do ouvido e das axilas⁴. Até a presente data, são conhecidas onze espécies comensais, das quais a mais freqüentemente isolada em hemoculturas é o *Staphylococcus epidermidis*⁴⁻⁶. Hemoculturas positivas para essa bactéria vêm sendo uma grande dúvida para os profissionais que trabalham na área da saúde, pois ao mesmo tempo que o *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* é considerado um importante patógeno, também é, como já citado, conhecido como um

1. Bióloga da Unidade de Microbiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
2. Acadêmica de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
3. Aluna do curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
4. Biólogo do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
5. Chefe da Unidade de Microbiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
6. Professor Titular do Depto. de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Chefe da Unidade de Neonatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

colonizante da pele⁷. Por serem responsáveis por bacteremia neonatal, principalmente em recém-nascidos com fatores de risco, esses microorganismos passaram a ter mais importância como patógenos⁸⁻¹¹.

Um estudo realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)¹² revelou que, entre pacientes menores de um ano, 57,1% dos resultados de hemoculturas positivas eram devidos ao *Staphylococcus sp. coagulase-negativa*. O mesmo trabalho demonstrou que apenas 22,1% das hemoculturas positivas eram devidos a esses agentes quando considerados os pacientes de todo o hospital. Devido à dificuldade em coletar sangue de crianças, é comum encontrarmos contaminação nas amostras de hemoculturas coletadas desses pacientes.

O presente estudo foi delineado com o objetivo de determinar a prevalência de infecção *versus* contaminação por *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* em pacientes com menos de 60 dias de vida que possuíram hemoculturas positivas para tal microorganismo.

Material e Métodos

Foi realizado um estudo transversal não controlado, no qual foram estudadas 45 hemoculturas positivas para *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* de 41 pacientes com idade inferior a 60 dias no período de 1º fevereiro à 31 de julho de 1993. Foram revisados os prontuários de todos os pacientes a fim de determinar a presença de infecção.

Hemoculturas: as amostras de sangue foram solicitadas a critério do médico assistente e colhidas na Unidade de Neonatologia do HCPA. Para a colheita do sangue foram seguidas as normas do hospital, fazendo-se a assepsia do local com álcool iodado e evitando-se a colheita no pico febril, já que nesse momento o número de bactérias circulantes diminui devido à fagocitose. Logo após o procedimento, as amostras de sangue foram inoculadas em meio de cultura (Anaeróbio Pediátrico - Cefar), seguindo a proporção de 10% de sangue do volume total do meio. Os meios foram enviados, após a coleta, para a Unidade de Microbiologia, onde foram incubados em estufa microbiológica a 37º C. As amostras foram mantidas no Laboratório até 7 dias, avaliando-se a turbidez diariamente. No segundo e no sétimo dia de incubação, todas as amostras foram submetidas à avaliação microscópica pelo método de Gram e, no segundo dia, as amostras também foram semeadas em placas de ágar-sangue e ágar-chocolate, as quais foram incubadas à 37º C, em ambiente com CO₂, e avaliadas após 24 e 48 horas de incubação. Sempre que houvesse suspeita de positividade, detectada pela turbidez do meio, por algum crescimento nas placas de ágar-sangue e ágar-chocolate, ou através do exame bacterioscópico, a amostra era separada e o Gram repetido para confirmar a positividade. Em todas as espécies de *Staphylococcus* foram realizadas as provas da Coagulase em tubo e em lâmina para a detecção do fator de aglutinação (*clumping factor*). A identificação final e o teste antibiograma de todos os *Staphylococcus sp* coagula-

se-negativa foram realizados no aparelho de automação em Microbiologia "Vitek-Systems", através dos cartões GPI, para a identificação e GPS-SA, para o teste de suscetibilidade.

Revisão de prontuários: de acordo com critérios da literatura^{8,13,14}, foram considerados **infectados** por *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* (grupo I) aqueles pacientes que apresentaram:

(a) 2 hemoculturas positivas para o mesmo microorganismo, independentemente do tempo de crescimento, e receberam tratamento com antimicrobianos, ou

(b) apenas 1 hemocultura positiva, na qual o *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* cresceu dentro de 72 horas a partir da incubação.

Os pacientes foram considerados **não-infectados** por *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* (grupo II) quando apresentaram:

(a) apenas 1 hemocultura positiva, na qual o microorganismo cresceu após 72 horas a partir da incubação;

(b) apenas 1 hemocultura positiva, mas não receberam tratamento com antimicrobianos, obtendo alta hospitalar em condições estáveis;

(c) 1 hemocultura positiva, na qual o microorganismo cresceu após 72 horas a partir da incubação, seguida por 1 hemocultura negativa, coletada antes de iniciarem tratamento com antimicrobianos;

(d) 1 hemocultura positiva, seguida de 1 hemocultura negativa, sem ter havido tratamento com antimicrobianos;

(e) 2 hemoculturas positivas, sem ter havido tratamento com antimicrobianos, tendo o paciente obtido alta hospitalar em condições estáveis;

(f) 2 hemoculturas positivas para microorganismos diferentes, independentemente do tempo de crescimento desses.

Os pacientes que tiveram 1 hemocultura positiva, na qual o *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* cresceu dentro de 72 horas após a incubação, seguida por 1 hemocultura negativa coletada antes de iniciarem tratamento com antimicrobianos, foram considerados como casos **duvidosos** (grupo III), sobre os quais não se pode afirmar se houve infecção ou contaminação.

Em pacientes que tiveram 2 hemoculturas positivas para a mesma espécie de *Staphylococcus sp. coagulase-negativa* essas foram atribuídas ao mesmo microorganismo quando os antibiogramas se mostravam idênticos ou diferiam na sensibilidade a apenas um dos dez antibióticos testados. Foram considerados microorganismos diferentes aqueles cujos antibiogramas diferiam na sensibilidade a 2 ou mais antibióticos.

O tempo de incubação dos microorganismos foi calculado como sendo o período compreendido entre o dia de entrada da hemocultura no laboratório de Microbiologia do HCPA até 48 horas antes da liberação final do seu resultado. Na análise dos resultados, essa variável foi utilizada como variável dicotômica (≤ 72 horas a partir da incubação

ou > 72 horas a partir da incubação). Cabe salientar que, assim que se detectava a positividade de uma hemocultura, o médico era avisado e mantido informado até a liberação do resultado final.

A revisão dos prontuários incluiu, além dos resultados das hemoculturas e de dados de identificação dos pacientes, informações sobre idade gestacional, tipo de parto, apgar, peso ao nascer, presença de febre, icterícia precoce, problemas respiratórios, hipoglicemia, tremores ou convulsões, hemograma infeccioso e ocorrência de infecção materna.

Análise estatística: os dados foram armazenados e analisados no sistema computacional EPI-Info 6.0. Foi realizada análise descritiva e comparações entre grupos (teste qui-quadrado e análise de variância).

Resultados

De uma amostra inicial de 43 pacientes e 49 hemoculturas, 2 pacientes (e 4 hemoculturas) foram perdidos, pois seus prontuários não foram encontrados no arquivo geral do HCPA, totalizando uma perda de 4,65%.

De 41 pacientes em estudo, foram identificados 45 hemoculturas positivas para *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa. Do total de 45 hemoculturas positivas, 41 (91,1%) foram positivas para *S. epidermidis*, 3 (6,7%) para *S. hominis* e 1 (2,2%) para *S. warneri*.

Houve predomínio do sexo masculino (53,7%) e a média de idade foi de 12,36 dias de vida (variação de 0 a 51 dias de vida, com mediana igual a seis dias). Dos 41 pacientes, 11 (26,8%) foram considerados infectados (grupo I), 25 (61,0%), não-infectados (grupo II) e 5 (12,2%), casos duvidosos (grupo III). Do grupo II, 8 (32%) pacientes receberam tratamento com antimicrobianos.

A média de idade dos pacientes não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos (Tabela 1). Nenhuma das demais variáveis obtidas a partir da revisão dos prontuários (dados clínicos) apresentaram diferenças significativas entre os três grupos. Uma das razões para esse fato pode ser o baixo número de pacientes em cada grupo.

Discussão

Com o aumento do uso de cateteres intravenosos, próteses valvulares e também com o aumento de pacientes imunodeprimidos, os microorganismos encontrados até então como habitantes normais da pele humana, começaram a ganhar acesso à corrente sanguínea. Dessa forma, bactérias antes conhecidas como apenas contaminantes começaram a ganhar importância nas últimas décadas como patógenos infecciosos¹⁵.

O *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa, que constitui o grupo representante da maior microflora humana¹⁵ e que atualmente também está relacionado a casos sérios de infecções, vem sendo motivo de muitos estudos. A importância desses microorganismos encontra-se principalmente pelo fato de serem os patógenos mais comuns responsáveis por bacteremia em recém-nascidos de baixo peso^{5,6,14}, por causarem excesso de mortalidade e por aumentarem o tempo de hospitalização¹⁴.

Ao mesmo tempo que em certos casos o *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa presente na pele pode ser coletado junto com o sangue, não estando associado a nenhum processo infeccioso, em outros casos essas bactérias podem ser coletadas a partir do sangue, estando diretamente associadas a processos infecciosos sérios. Dessa forma, cria-se a grande dúvida para os médicos na hora da interpretação dos resultados.

St. Geme III e colaboradores¹⁷, preocupados com o surgimento do *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa como um importante patógeno em crianças, sugeriram um método de hemoculturas quantitativas para diferenciar infecção de contaminação. Os resultados mostraram que uma alta contagem de bactérias (>50 ufc/ml) representava casos de septicemias, porém, os dados também mostraram que o crescimento de poucas colônias (< 50 ufc/ml) não poderia ser ignorado na população de alto risco.

Dessa forma, evidencia-se a importância de relacionar os dados laboratoriais com os sintomas clínicos dos pacientes. Assim como em outros estudos¹⁷, critérios clínicos e laboratoriais foram selecionados a fim de separar os pacientes, conforme resultados dos exames, em três grupos: infectados, não-infectados e duvidosos.

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes nos diferentes grupos e subgrupos com relação a idade (em dias) e sexo

	Grupo I	Grupo II	Grupo II	Grupo II	Grupo II	Grupo II	Grupo III
		A	B	C	D	E	
Pacientes (n)	11	6	10	2	6	1	5
Média idade	12,55	14,8	21,2	2,0	6,5	4,0	7,6
(±d.p)	(14,33)	(13,64)	(15,72)	(2,12)	(7,94)	(0,0)	(6,73)
Masc. (n)	6	4	4	1	4	1	2

De 45 hemoculturas positivas estudadas, em 41 foi encontrado o *Staphylococcus epidermidis*, conhecido como a espécie mais freqüentemente isolada de materiais clínicos^{15,16,18-20}. As outras duas espécies encontradas foram o *Staphylococcus hominis* (n=3) e o *Staphylococcus warneri* (n=1). Embora essas espécies não tenham sido isoladas nas amostras de hemocultura do grupo de pacientes infectados, é importante citarmos que ambas também estão relacionadas a infecções clínicas¹⁵.

Kleman e colaboradores¹⁸, comparando métodos de identificação, estudaram 499 espécies de *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa num hospital comunitário, onde as espécies mais freqüentes em materiais clínicos foram o *Staphylococcus epidermidis*, o *Staphylococcus hominis* e o *Staphylococcus haemolyticus*.

Em outro estudo¹⁹, 27 episódios de bacteremias causadas pelo *Staphylococcus warneri* foram identificadas em um hospital de Nova York. Esse trabalho mostrou a importância do *Staphylococcus warneri* como um patógeno humano em potencial, enfatizando também o valor da identificação das espécies de *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa.

No estudo de Sidebottom e colaboradores¹⁰, a probabilidade de crescimento de *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa em uma hemocultura aumentava de 2% para 3% na primeira semana de hospitalização, atingindo um pico de 12% entre a segunda e a quinta semanas. Em nosso estudo, a média de idade do grupo infectado foi de 12,36 dias, confirmando que a infecção por *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa geralmente é tardia, embora possa ser precoce, como foi demonstrado por Stoll e colaboradores²⁰.

No nosso estudo, 61% das hemoculturas positivas para *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa foram consideradas contaminação e, dessas, 32% receberam tratamento antimicrobiano de acordo com a resistência do microorganismo. Munson e colaboradores¹³ mostraram que as cefalosporinas são efetivas no tratamento de recém-nascidos com septicemia por *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa. No entanto, há estudos que demonstram uma prevalência de resistência à metilicina, ou seja, resistência a qualquer antibiótico b-lactâmico por esses microorganismos, variando entre 10 e 85%^{9,16}.

O uso excessivo de antimicrobianos em unidades de neonatologia é bem conhecido e, de certa forma, inevitável^{6,21}. Sabe-se que a vancomicina é efetiva contra *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa tanto *in vitro* como na prática clínica, sendo, portanto, o fármaco de escolha para o tratamento de cepas resistentes^{9,16}. No entanto, deve-se reavaliar o uso indiscriminado de antimicrobianos potentes para o tratamento de certos casos, como nesse estudo, em que a maioria das hemoculturas positivas para *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa foi considerada contaminação.

Administrar vancomicina para pacientes não infectados implica em aumentar o risco da emergência de resistên-

cia bacteriana, esgotando, dessa forma, o último recurso comprovadamente eficaz no tratamento da infecção por cepas de *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa resistentes. Assim sendo, sugere-se que a conduta ideal quando houver suspeita de bacteremia deva incluir a realização de mais de uma hemocultura antes do início do tratamento antimicrobiano. Tal atitude possibilita uma melhor avaliação do resultado, evitando o emprego de antimicrobianos, que deveriam ser utilizados somente na vigência de infecção por *Staphylococcus* sp. coagulase negativa.

Referências bibliográficas

1. Baron EJO, Lance PR, Finegold SM. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9ª ed. Chicago: Mosby, 1994:193-209.
2. McGovan JR, Shulman JA. Blood stream invasion. In: Gorbach S, Bartlett J, Blacklow N, ed. Infectious Diseases. Philadelphia:Saunders, 1992. p.535-43.
3. Marty L, Flahaut A, Suarez B, Caillon J, Hill C, Andremont A. Resistance to methicillin and virulence of *Staphylococcus aureus* strains in bacteriemic cancer patients. Intensive Care Med 1993;19:285-9.
4. Patrick CC. Coagulase-negative staphylococci: pathogens with increasing clinical significance. J Pediatr 1990;116:497-507.
5. Patrick CC, Kaplan SL, Baker CJ, Parisi JT, Mason EO. Persistent bacteremia due to coagulase-negative staphylococci in low birth weight neonates. Pediatrics 1989;84:977-85.
6. Battisti O, Mitchison R, Davies PA. Changing blood culture isolates in a referral neonatal intensive care unit. Arch Dis Child 1981;56:775-8.
7. O'Connor TA, Ringer KM, Gaddis ML. Mean platelet volume during coagulase-negative Staphylococcal sepsis in neonates. Hematopathology 1993;99:69-71.
8. Calnen G, Campognone P, Peter G. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia in newborns. Clin Pediatr 1984;23:542-4.
9. Goldmann DA. Coagulase-negative staphylococci: interplay of epidemiology and bench research. Am J Infect Control 1990;18:211-21.
10. Sidebottom DG, Freeman J, Platt R, Epstein MF, Goldman DA. Fifteen-year experience with bloodstream isolates of coagulase-negative staphylococci in neonatal intensive care. J Clin Microbiol 1988;26:713-8.
11. De Leon SP, Wenzel RP. Hospital-acquired bloodstream infections with *Staphylococcus epidermidis*. Am J Med 1984;77:639-44.
12. Silbert S, Matte U, Barcellos SH, Goldim JR. Hemoculturas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre: uma análise de 6 meses. Revista HCPA 1996; 16:28-30.
13. Munson DP, Thompson TR, Johnson DE, Rhame FS, VanDrunen N, Ferrieri P. Coagulase-negative staphylococcal septicemia: experience in a newborn intensive care unit. J Pediatr 1982;101:602-5.
14. Martin MA, Pfaller MA, Wenzel RP. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia. Ann Intern Med 1989;110:9-16.

15. Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, ed. Manual of Clinical Microbiology. 6^a ed. Washington: ASM Press, 1995:282-98.
16. Noel GJ, Edelson PJ. *Staphylococcus epidermidis* bacteremia in neonates: further observations and the occurrence of focal infection. Pediatrics 1984;74:832-7.
17. St. Geme III JW, Bell LM, Baumgart S, D'Angio CT, Harris MC. Distinguishing sepsis from blood culture contamination in young infants with blood cultures growing coagulase-negative staphylococci. Pediatrics 1990; 86:157-62.
18. Kleeman KT, Bannerman TL, Kloos WE. Species distribution of coagulase-negative Staphylococcal isolates at a community hospital and implications for selection of Staphylococcal identification procedures. J Clin Microbiol 1993; 31:1318-21.
19. Kamath U, Singer C, Isenberg HD. Clinical significance of *Staphylococcus warneri* bacteremia. J Clin Microbiol 1992;30:261-4.
20. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB et al. Early onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. J Pediatr 1996;129:72-80.
21. Hannerschlag MR, Klein JO, Herschel M, Chen FCJ, Fermin R. Patterns of use of antibiotics in two newborn nurseries. N Engl J Med 1977;296:1268-9.

Endereço para correspondência:

Suzane Silbert

Rua João Telles, 440/301

CEP 90035-120 - Porto Alegre - RS

Fone: (051) 311.8668 - Fax: (051) 332.8324 - R: 2319

E-mail: suzi@dpx1.hcpa.ufrgs.br