

UTILIZAÇÃO DO MEIO DE CULTURA NOVOBIOCINA-NITRATO-
SACAROSE (NNS) NO DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO DE
*STAPHYLOCOCCUS SAPROPHYTICUS**

Maria Lúcia Cecconi TONDELLA**
Cláudio Tavares SACCHI**
Sônia Shizue Okita BUSCHINELLI**
Silvana Tadeu CASAGRANDE**
Maria Cristina de Cunto BRANDILEONE**
Lucimar Gonçalves MILAGRES***

RIALA6/670

TONDELLA, M.L.C.; SACCHI, C.T.; BUSCHINELLI, S.S.O.; CASAGRANDE, S.T.;
BRANDILEONE, M.C.C. & MILAGRES, L.G. — Utilização do meio de cultura
Novobiocina-Nitrato-Sacarose (NNS) no diagnóstico presuntivo de
Staphylococcus saprophyticus. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 49(2):137-143, 1989.

RESUMO: O meio de cultura NNS, constituído de púrpura de bromocresol, nitrato de potássio, sacarose e novobiocina, foi utilizado na diferenciação de *Staphylococcus saprophyticus* isolados de urina. Na formulação do meio NNS, a resistência à novobiocina, característica normalmente utilizada no diagnóstico presuntivo de *Staphylococcus saprophyticus*, foi associada a sua capacidade de utilizar a sacarose e à ausência da enzima nitrato-redutase, visando a diferenciação deste microorganismo dos demais estafilococos coagulase negativa, inclusive os igualmente resistentes à novobiocina (*Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus sciuri*). Os *Staphylococcus cohnii* não utilizam a sacarose (88% das cepas), enquanto os *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus sciuri* reduzem nitrato a nitrito em 100 e 80% das cepas, respectivamente. De 74 cepas de estafilococos coagulase negativa isoladas de urina, 49 (66,2%) cepas de *Staphylococcus saprophyticus* foram diferenciadas pelo meio NNS, tendo sido obtidos resultados de valor predicativo de resultado positivo de 100%, sensibilidade de 95,9%, especificidade de 100% e eficiência de 97,2%. As cepas foram posteriormente caracterizadas ao nível de espécie, segundo esquema proposto por KLOOS e SCHLEIFER, quando se obteve 66,2% de *Staphylococcus saprophyticus*, 13,5% de *Staphylococcus simulans*, 8,1% de *Staphylococcus epidermidis*, 5,4% de *Staphylococcus haemolyticus*, 5,4% de *Staphylococcus hominis* e 1,4% de *Staphylococcus sp.* O comportamento do meio NNS foi avaliado através de cepas de referência das diferentes espécies do gênero *Staphylococcus*.

DESCRITORES: *Staphylococcus saprophyticus*; estafilococos coagulase negativa; infecção do trato urinário; resistência à novobiocina.

INTRODUÇÃO

Os estafilococos coagulase negativa (ECN) têm sido freqüentemente apontados como agentes patogênicos oportunistas, especialmente nos casos de infecções após intervenções cirúrgicas, endocardites bacterianas subagudas, peritonites, meningites bacterianas etc.^{6,9,30}.

A partir de 1970, inicialmente na Europa e posteriormente nos EUA e Canadá, uma espécie particular de ECN, *S. saprophyticus*, vem sendo reconhecida como agente etiológico de infecções do trato urinário em mulheres jovens^{1,3,12,23}.

O diagnóstico laboratorial presuntivo das infecções urinárias causadas pelo *S. saprophyticus*

* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Aluna de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP.

tem sido principalmente feito pela demonstração de sua resistência à novobiocina na concentração de 5 mcg/ml^{18,24,25}. A caracterização bioquímica deste microorganismo, bem como dos demais ECN ao nível de espécie, tem sido feita segundo o esquema proposto por KLOOS & SCHLEIFER^{17,18,28,29}, pelo sistema API STAPHIDENT²⁰, ou pelo sistema de caracterização e biotipagem recentemente proposto por HERBERT et alii^{14,15}. É sabido, entretanto, que outros ECN (*S. cohnii*, *S. xylosus* e *S. sciuri*) são igualmente resistentes à novobiocina^{19,28}, e que algumas cepas de *S. epidermidis* resistentes a esta droga já foram registradas³³.

O fato acima mencionado levou-nos à pesquisar outras características diferenciais que tornassem possível a separação do *S. saprophyticus* dos demais ECN resistentes à novobiocina. Através do sistema de caracterização bioquímica de KLOOS & SCHLEIFER^{19,28}, verifica-se que os *S. cohnii* utilizam a sacarose em 88% das cepas, enquanto os *S. xylosus*, *S. sciuri* e *S. epidermidis* reduzem nitrato a nitrito em 100, 80 e 80% das cepas, respectivamente. Portanto, o presente estudo teve por objetivo a formulação de um meio de cultura simples, que pudesse identificar rápida e presuntivamente as cepas de *S. saprophyticus*. O meio de cultura NNS foi composto baseado não somente na capacidade deste microorganismo de crescer na presença de 5 mcg/ml de novobiocina, mas também na sua capacidade de utilizar o carboidrato sacarose e na sua incapacidade em reduzir o nitrato²⁸, características estas que permitem uma diferenciação mais precisa entre os demais ECN.

MATERIAL E MÉTODOS

Cepas bacterianas — As 74 cepas de ECN estudadas foram isoladas de amostras de urina com contagens superiores a $1,0 \times 10^5$ organismos/ml, na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz-SP. Foram também utilizadas 12 cepas de referência (*S. aureus*, *S. xylosus*, *S. capitis*, *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. simulans*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri sciuri*, *S. sciuri lentus*), gentilmente cedidas pelo Dr. W. E. KLOOS, da Universidade do Estado da Carolina do Norte, USA. As cepas de referência foram mantidas no estado liofilizado a +4°C, e as cepas isoladas foram mantidas à temperatura ambiente em meio sólido de conservação¹⁶.

Meio NNS — O meio de cultura NNS foi composto de extrato de carne 0,1%; proteose peptona nº 3, 1%; cloreto de sódio, 0,5%; púrpura de bromocresol, 0,002%, pH 6,8; acrescido de 0,5% de nitrato de potássio e esterilizado por autocla-

vação a 121°C por 15 minutos. Após o resfriamento foram adicionadas a sacarose (Difco Laboratories, Detroit, Mich., USA) e a novobiocina (Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico Ltda. (CECON), São Paulo, SP, Brasil) nas concentrações finais de 1% e 5 mcg/ml, respectivamente. As soluções estoques de novobiocina e sacarose foram esterilizadas por filtração em membranas Millipore de 0,45 e 0,22 μ . O meio foi distribuído em alíquotas de 5 ml em tubos de 12 x 120 mm, com tampas de rosca, e sua esterilidade foi testada a 37°C por 48 horas. O meio NNS foi conservado a 4°C.

O inóculo foi constituído de 0,1 ml de uma suspensão bacteriana, feita em água destilada estéril a partir de uma cultura pura de 24 horas em ágar simples inclinado. Esta suspensão correspondeu à turbidez do tubo nº 2 da escala de McFarland, tendo portanto uma densidade aproximada de 6×10^8 cel/ml. Os tubos foram incubados em estufa a 37°C e as leituras foram efetuadas após 24 horas pela verificação do crescimento bacteriano (turvação do meio). A utilização da sacarose foi indicada pela viragem do indicador de pH, e a redução de nitrato pela adição dos reativos de Griss, segundo método descrito por COWAN & STEEL⁷. Nos casos em que não houve crescimento bacteriano, as cepas foram reincubadas por mais dois dias, em estufa, a 37°C.

Caracterização das cepas de ECN ao nível de espécie — As 74 cepas de ECN foram caracterizadas ao nível de espécie, assim como as cepas de referência, tomadas como controle, através da maioria das provas preconizadas por KLOOS & SCHLEIFER, e outras cujas referências bibliográficas serão citadas na oportunidade.

A partir de uma cultura pura de 24 horas em ágar P inclinado¹⁷, foram efetuados testes para a verificação de: morfologia das colônias e presença de pigmento em placas de ágar P¹⁷; comportamento em relação ao oxigênio^{16,27}; presença de enzima catalase em teste de lâmina, segundo técnica citada por MAC FADDIN²²; presença de citocromo C oxidase^{5,27}; habilidade em utilizar a glicose aeróbica e anaerobicamente¹⁶; produção aeróbica de ácido a partir do glicerol em presença de 0,4 mcg/ml de eritromicina em ágar púrpura de bromocresol²⁹; susceptibilidade à lisostafina (Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo, USA) nas concentrações de 200 mcg/ml e 50 mcg/ml²⁸; atividade de coagulase livre e ligada em plasma de coelho^{23,2}; presença de desoxirribonuclease termossensível em ágar DNA⁸; susceptibilidade a 1,6 mcg/ml de novobiocina pelo método em placa de ágar P²⁸; redução de nitrato a nitrito^{7,17}; hidrólise da uréia em meio uréia-indol⁸; hemólise em ágar sangue de carneiro (5% de sangue desfibrinado em ágar P)¹⁸; verificação de produção aeróbica de

ácido a partir de carboidratos (maltose, sacarose, trealose, manose, xilose e manitol)¹⁸.

Análise dos dados - Para análise da capacidade do meio NNS em diferenciar *S. saprophyticus* dos outros ECN, um resultado positivo verdadeiro foi classificado como uma cepa de *S. saprophyticus*, aquela capaz de crescer no meio NNS, após incubação de 24 horas em estufa a 37°C, produzir ácido a partir da sacarose e não reduzir o nitrato a nitrito. Um resultado negativo verdadeiro foi classificado como uma cepa de ECN não *S. saprophyticus*, que não cresceu no meio NNS, ou que, embora resistente a 5 mcg/ml de novobiocina, foi incapaz de utilizar a sacarose, podendo ou não reduzir o nitrato a nitrito; ou, ainda, que cresceu no meio NNS, utilizou a sacarose, mas apresentou redução de nitrato positiva. Os valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos de resultados positivo e negativo e eficiência foram calculados de acordo com GALEN et alii¹⁹.

Susceptibilidade microbiana - O teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos foi realizado segundo a técnica de BAUER et alii⁴, onde foram utilizados discos impregnados com quimioterápicos (Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico Ltda. (CECON), São Paulo, SP, Brasil), nas seguintes concentrações: amicacina, 30 mcg; ampicilina, 30 mcg; canamicina, 30 mcg; cafalotina, 30 mcg; cefoxitina, 30 mcg; cloranfenicol, 30 mcg; eritromicina, 15 mcg; estreptomomicina, 10 mcg; gentamicina, 10 mcg; lincomicina, 2 mcg; novobiocina, 30 mcg; oxacilina, 1 mcg; penicilina, 10 mcg; sulfamethoxazol-trimethoprim, 25 mcg; tetraciclina, 30 mcg; vancomicina, 30 mcg.

RESULTADOS

O meio de cultura NNS foi inicialmente testado com as 12 cepas de referência de *Staphylococcus*, tendo os resultados sido referidos na tabela 1. Usando-se o critério de um resultado positivo no meio NNS, como sendo a presença de crescimento bacteriano, utilização da sacarose e ausência da enzima nitrato redutase após 24 horas de incubação a 37°C, pudemos caracterizar presuntivamente os *S. saprophyticus* entre as 74 cepas de ECN, com um valor preditivo de resultado positivo de 100%. O valor preditivo na diferenciação das cepas de ECN, não pertencentes a espécie *S. saprophyticus* (valor preditivo de resultado negativo), foi de 92,6%. A sensibilidade deste meio foi de 95,9% e sua especificidade e eficiência foram de 100 e 97,2%, respectivamente. Duas cepas de *S. saprophyticus* não utilizaram a sacarose no meio NNS após 24 horas de incubação, tendo sido consideradas como fal-

TABELA 1

Comportamento das cepas de referência de *Staphylococcus* frente ao meio NNS

Espécie	Meio NNS		
	Crescimento (turvação)	Utilização de sacarose	Redução de nitrato
<i>S. aureus</i>	-		
<i>S. epidermidis</i>	-		
<i>S. saprophyticus</i>	+	+	-
<i>S. simulans</i>	-		
<i>S. hominis</i>	-		
<i>S. haemolyticus</i>	-		
<i>S. warneri</i>	-		
<i>S. capitis</i>	-		
<i>S. xylosus</i>	+	+	+
<i>S. cohnii</i>	+	-	-
<i>S. sciuri sciuri</i>	-		
<i>S. sciuri lentus</i>	-		

+ Teste positivo

- Teste negativo

so-negativas (presuntivamente *S. cohnii*), o que contribuiu para a diminuição de alguns valores acima citados. Estas cepas utilizaram a sacarose após reincubação por mais 24 horas em estufa a 37°C. Entre os ECN estudados, com exceção feita aos *S. saprophyticus*, apenas 2 cepas de *S. haemolyticus* apresentaram crescimento no meio NNS, sendo que ambas não utilizaram a sacarose após 48 horas de incubação, mas reduziram nitratos a nitritos. Estas cepas foram classificadas como negativas verdadeiras e suas resistências à novobiocina foram posteriormente confirmadas pelos respectivos antibiogramas.

As 74 cepas de ECN foram diferenciadas do gênero *Micrococcus* pela produção aeróbica de ácido a partir do glicerol, em presença de 0,4 mcg por ml de eritromicina (95,9%), pela utilização da glicose aeróbica e anaerobicamente (100%), pelo comportamento aeróbico-anaeróbico facultativo (95,9%), e pela sensibilidade à lisostafina na concentração de 200 mcg/ml (78,4%). As espécies de ECN que caracteristicamente produzem pequenas quantidades de ácidos em consequência do metabolismo fermentativo da glicose, tais como *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, apresentaram reações fracas de acidificação no meio STAPH-MEVAG¹⁶. O sistema utilizado na identificação dos ECN ao nível de espécie permitiu a caracterização de 49 (66,2%) cepas de *S. saprophyticus*, 10 (13,5%) cepas de *S. simulans*, 6 (8,1%) de *S. epidermidis*, 4 (5,4%)

TABELA 2

Características morfológicas, bioquímicas e de resistência das 49 cepas de *S. saprophyticus* isoladas de culturas de urina

Características	Comportamento	%
Tamanho da colônia (diâmetro 5mm)	+	89,8
Catalase	+	100,0
Oxidase	-	100,0
Comportamento frente ao O ₂	AAF	100,0
Utilização aeróbica e anaeróbica da glicose (% de fermentação)	(+)/+	89,8/10,2
Utilização aeróbica do glicerol em presença de eritromicina (0,4 mcg/ml)	+	100,0
Susceptibilidade à lisostafina (200 mcg/ml)	+	77,5
Susceptibilidade à lisostafina (50 mcg/ml)	-	77,6
Coagulase livre	-	100,0
Coagulase ligada	-	100,0
Desoxirribonuclease termo sensível	-(+)	95,9/4,1
Resistência à novobiocina (1,6 mcg/ml)	+	100,0
Redução de nitrato	-	100,0
Urease	+*	100,0
Pigmento	+**	73,5
Hemólise (sangue de carneiro)	-	100,0
Produção aeróbica de ácido a partir de:		
Maltose	+	100,0
Trealose	+	100,0
Sacarose	+	100,0
Manose	-	100,0
Xilose	-	100,0
Manitol	+	100,0

Símbolos: + Teste positivo
 - Teste negativo
 (+) Teste positivo fraco
 AAF Aeróbio-anaeróbio facultativo
 * Reação imediata
 ** Pigmento amarelo

cepas de *S. haemolyticus* e 4 (5,4%) cepas de *S. hominis*. Uma cepa apresentou características que impossibilitaram sua classificação dentre as espécies de ECN até agora descritas. Oito cepas comprovadamente não pertencentes às espécies *S. epidermidis* (trealose positivas) e *S. saprophyticus* (sensíveis à novobiocina) apresentaram perfis bioquímicos que não corresponderam exatamente aos descritos por KLOOS & SCHLEIFER¹⁸, no que diz respeito à utilização da maltose, manose e manitol. Para estes casos foi utilizado o critério de classificação de NICOLLE et alii²⁵, onde as cepas manitol negativas e maltose positivas foram classificadas como *S. hominis* e aquelas manitol e maltose negativas, mas manose positivas, foram classificadas como *S. simulans*. Por outro lado, todas as cepas de *S. saprophyticus* apresentaram um perfil funcional bastante característico (tabela 2).

Das 49 cepas de *S. saprophyticus*, 47(95,9%)

TABELA 3

Sexo e faixa etária dos pacientes portadores de *Staphylococcus saprophyticus* na urina

Faixa etária anos	SEXO			
	Feminino		Masculino	
	Nº	%	Nº	%
0-5	3	6,12		
17-35	34	69,39		
36-35	5	10,21		
>45	1	2,04	1	2,04
i.d.*	4	8,16	1	2,04
Total	47		2	

*i.d. =idade desconhecida

foram isoladas de urina de mulheres não hospitalizadas, e duas foram provenientes de pacientes do sexo masculino. A faixa etária predominante das mulheres foi de 17 a 35 anos, conforme visto na tabela 3.

Os perfis de resistência aos quimioterápicos das diferentes espécies de ECN estão relacionados a seguir: 46 (93,88%) cepas de *S. saprophyticus* foram resistentes à novobiocina, enquanto 2 (50%) cepas de *S. haemolyticus*, multirresistentes, apresentaram igualmente resistência a esta droga. Quatro (66,66%) cepas de *S. epidermidis*, 3 (75%) cepas de *S. haemolyticus*, 2(20%) cepas de *S. simulans*, 3 (6,12%) de *S. saprophyticus* foram simultaneamente resistentes aos antibióticos penicilina e ampicilina. Não foram efetuados testes de detecção da enzima beta-lactamase. Uma resistência significativa à oxacilina foi observada entre as cepas de *S. haemolyticus* (75%), *S. saprophyticus* (46,94%) e *S. hominis* (25%), o mesmo não sendo verificado em relação à espécie *S. epidermidis*. Entretanto, todas as cepas testadas foram sensíveis às cefalosporinas (cefalotina e cefoxitina).

DISCUSSÃO

Pela análise da tabela 1, pudemos verificar que o meio de cultura NNS apresentou o comportamento previsto em relação às cepas de referência de *Staphylococcus*, uma vez que o mesmo impediu o crescimento das espécies sensíveis à novobiocina, sendo que as espécies resistentes utilizaram a sacarose e/ou reduziram nitratos, em conformidade com as características bioquímicas inerentes a cada espécie.

Os valores predicativos de resultados positivo e negativo, sensibilidade, especificidade e eficiência do meio NNS na diferenciação das cepas de *S. saprophyticus* dos demais ECN mostraram-se bastante satisfatórios. STEVENS²¹, utilizou um meio de cultura sólido (TMPA) contendo trealose, manitol e reagentes necessários à pesquisa da enzima fosfatase, associado ao teste de resistência à novobiocina pela utilização de discos impregnados com 5 mcg deste antibiótico. Os valores predicativos de resultados positivos e negativos encontrados foram de 83,9 e 100%, respectivamente, a sensibilidade e especificidade de 100% e 97,1%, respectivamente. NICOLLE²⁵ utilizou apenas a resistência à novobiocina (disco com 5 mcg de novobiocina) no diagnóstico presuntivo de *S. saprophyticus* isolados de urina, obtendo um valor predicativo de resultado positivo, na sua diferenciação dos demais ECN de 83%, sensibilidade de 100% e especificidade de 96%. PICKETT²⁶ utilizou o test "spot" em papel de filtro, de colônias provenientes de ágar sangue contendo

difosfato de fenolfaleína, com o objetivo de detectar colônias de estafilococos fosfatase negativos. Este teste conjugado ao teste de resistência à novobiocina (discos impregnados com 5 mcg de novobiocina) possibilitou uma triagem dos *S. saprophyticus* isolados de urina, com um valor predicativo de 87,5%. Através de uma análise comparativa, pudemos verificar que o meio NNS apresentou valores estatísticos semelhantes aos demais acima relacionados, além de ser um meio de cultura que permitiu a avaliação direta da resistência à novobiocina, sem a necessidade do uso adicional de teste de resistência, pela utilização de discos impregnados com este antibiótico.

Embora não tenham sido encontradas cepas de *S. cohnii* e *S. xyloso* entre as 74 cepas de ECN, pudemos diferenciar 2 cepas de *S. haemolyticus* resistentes à novobiocina, as quais teriam sido erroneamente diagnosticadas como *S. saprophyticus*, se houvesse sido utilizado um diagnóstico presuntivo baseado exclusivamente na resistência à novobiocina. Por outro lado, mesmo os testes para verificação da utilização da trealose, manitol e presença da enzima fosfatase não teriam sido suficientes para diferenciar estas duas espécies¹⁸. Ambas as cepas não utilizaram a sacarose no meio NNS (pelo sistema de identificação ao nível de espécie foram sacarose positivas), mas reduziram nitrato, o que possibilitou a diferenciação com o *S. saprophyticus*.

A respeito da utilização da sacarose no meio NNS, pudemos verificar que algumas cepas de *S. saprophyticus* apresentaram uma reação mais lenta, o que nos pareceu justificável pelo fato de o meio NNS ser um meio de cultura líquido, portanto com menor capacidade de detectar ácidos produzidos a partir de um metabolismo preferencialmente oxidativo, exibido por esta espécie. Os tubos de cultura que apresentaram uma modificação na cor púrpura do meio original para uma cor próxima do amarelo (denotando uma reação de acidificação), após 24 horas de incubação, foram considerados positivos, mesmo que a viragem completa de pH tenha ocorrido em 48 horas de incubação.

A estabilidade do meio NNS foi determinada pela análise do seu comportamento em relação às cepas de referência. O meio NNS, quando mantido à temperatura de 4° C, manteve suas características inalteradas por um período de 3 meses.

Neste estudo, pudemos verificar que a maioria das espécies de ECN isoladas das amostras significativas de urina (1,0 10⁵ colônias/ml) foram representadas pelos *S. saprophyticus* seguidos dos *S. simulans* e *S. epidermidis*. Estes resultados aparentemente divergiram de maneira significativa dos encontrados por alguns auto-

res^{11,23,25,26}, onde os *S. epidermidis* representaram os isolados mais frequentes de urina (70,8% aproximadamente) seguidos dos *S. saprophyticus* (15% aproximadamente), *S. haemolyticus* (6%) e *S. simulans* (4,8%). Entretanto, acreditamos que os nossos resultados foram perfeitamente compatíveis, uma vez que todas as nossas cepas foram isoladas de pacientes encaminhados ao Instituto Adolfo Lutz, pelos Centros de Saúde do Município de São Paulo, contrariamente a grande parte das cepas referidas em outros estudos, provenientes de pacientes hospitalizados. Os *S. epidermidis*, e outros ECN isolados de pacientes internados em hospitais, estão mais provavelmente relacionados à ocorrência de infecções

hospitalares ou à maior susceptibilidade de pacientes imuno deprimidos aos patógenos oportunistas^{23,26}. Por outro lado, o achado da predominância de *S. saprophyticus* em amostras de pacientes femininas jovens, não hospitalizadas, com sintomatologia clínica das vias urinárias, esteve perfeitamente de acordo com os resultados obtidos anteriormente^{1,12,25,26}.

Agradecimentos

Agradecemos ao Sr. Dr. Augusto de Escagnole Taunay e à Srta. Kinue Irino, pela valiosa orientação recebida na elaboração deste trabalho.

RIALA6/670

TONDELLA, M.L.C.; SACCHI, C.T.; BUSCHINELLI, S.S.O.; CASA-GRANDE, S.T.; BRANDILEONE, M.C.C. & MILAGRES, L.G. - Use of NNS (Novobiocin-Nitrate-Sucrose) medium to differentiate *Staphylococcus saprophyticus* from other coagulase-negative staphylococci. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 49(2):137-143, 1989.

ABSTRACT: Using the NNS medium, a simple base medium containing potassium nitrate, sucrose and novobiocin, we differentiated *Staphylococcus saprophyticus* isolated from urine specimens from other coagulase negative staphylococci, with a positive predicative value of 100%, sensitivity of 95,9%, specificity of 100% and efficiency of 97,2%. *Staphylococcus saprophyticus* has been differentiated from the other species by its resistance to novobiocin, but three other coagulase-negative staphylococcal species (*Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus sciuri*) are also novobiocin resistant. *Staphylococcus cohnii* fails to utilize the carbohydrate sucrose in 88% of strains and *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus sciuri* reduce nitrate in 100 and 80% of strains, respectively. These features were used in the formulation of this differential medium, which is not based exclusively on the resistance to novobiocin of *Staphylococcus saprophyticus* strains, but also on its capacity to utilise the carbohydrate sucrose and its lack of the nitrate reduction activity. Reference strains of *Staphylococcus* species were used to test the NNS medium.

DESCRIPTORS: *Staphylococcus saprophyticus*; coagulase-negative staphylococci, urinary tract infections; novobiocin resistance.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, J.D.; CLARKE, A.M.; ANDERSON, M.E.; ISAAC RENTON, J.L., & McLOUGHLIN, M.G. - Urinary tract infection due to *Staphylococcus saprophyticus* biotype 3. *Can. med. Assoc. J.*; 124: 415-8, 1981.
2. BAILLEY, R.R. - Significance of coagulase negative *Staphylococcus* in urine. *J. infect. Dis.*, 127: 179-82, 1973.
3. BAILEY, W.R. & SCOTT, E.G. - *Diagnostic microbiology*. St. Louis, C.V. Mosby Co.; 1966.
4. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M. - Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. clin. Pathol.*, 45: 493-6, 1966.
5. CARPENTER, C.M.; SUHRLAND, L.G. & MORRISON, M. - The oxalate salt of p-aminodimethylamine, an improved reagent for the oxidase test. *Science*, 1105: 649, 1947.
6. CRISTENSEN, 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.*, 18: 258-69, 1983.
7. COWAN, S.T. & STEEL, K.J. - *Manual for the identification of medical bacteria*. Cambridge University Press, 1975. p. 167.
8. DIFCO LABORATORIES - *Difco manual: medios de cultura deshidratados y reacciones para microbiología*. 10ª ed. Detroit, Mich., Difco, 1984. p. 263.
9. FLEURETTE, J. & BRUN, Y. - Rôle en pathologie humaine de *Staphylococcus epidermidis*. *etude de*

- 120 souches isolées des 53 malades. *Med. Mal. infect.*, 2:299-308, 1972.
10. GALEN, R.S. & GAMBINO, S.R. - *Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnoses*. New York, John Wiley, 1975. p. 115-6.
 11. 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.*, 18(6):1314-9, 1983.
 12. GILLESPIE, W.A.; SELLIN, M.; GILL, P.; STEPHENS, M.; TUCKWELL, L.A. & HILTON, A.L. - Urinary tract infections in young women with special reference to *Staphylococcus saprophyticus*. *J. clin. Pathol.*, 31.
 13. GOLDSTEIN, J.; SCHULMAN, R.; KELLEY, E.; MCKINLEY, G. & FUNG, J. - Effect of different media on determination of novobiocin resistance for differentiation of coagulase-negative staphylococci. *J. clin. Microbiol.*, 18:592-5 1983.
 14. HEBERT, G.A.; COOKSEY, R.C.; CLARK N.C.; HILL, B.C.; JARVIS, W.R. & THORNSBERRY, C. - Biotyping coagulase negative staphylococci. *J. clin. Microbiol.*, 26(10):1950-6, 1988.
 15. HEBERT, G.A.; CROWDER, C.G.; HANCOCK, G.A.; JARVIS, W.R. & THORNSBERRY, C. - Characteristics of coagulase-negative that help differentiate these species and other members of the family *Micrococcaceae*. *J. clin. Microbiol.*, 26(10):1939-49, 1988.
 16. INSTITUT PASTEUR - *Milieux et Réactifs de Laboratoire Pasteur*. Paris, Inst. Pasteur, 1978. p. 120, 141, 186.
 17. KLOOS, W.E.; TORNABENET, G. & SCHLEIFER, K.H. - Isolation and characterization of micrococci from human skin, including two new species: *Micrococcus lylae* and *Micrococcus kristinae*. *Int. J. syst. Bacteriol.*, 24(1):79-101, 1974.
 18. KLOOS, W.E. & SCHLEIFER, K.H. - Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *J. clin. Microbiol.*, 1(1): 82-8, 1975.
 19. KLOOS, W.E.; SCHLEIFER, K.H. & SMITH R.F. - Characterization of *Staphylococcus sciuri* sp. nov and its subspecies. *Int. J. syst. Bacteriol.*, 26(1) 22-37, 1976.
 20. KLOOS, W.E. & WOLFSHOHL, J.F. - Identification of *Staphylococcus* species with the API STAPH-IDENT system. *J. clin. Microbiol.*, 16(3):509-16, 1982.
 21. LAVERDIERE, M.; PETERSON, P.K.; VERHOEF, J.; WILLIAMS, D.N. & SABATH L.D. - In vitro activity of cephalosporins against methicillin resistant, coagulase negative staphylococci. *J. infect. Dis.*, 137:245-50, 1978.
 22. MAC FADDIN, J.F. - *Biochemical test for identification of medical bacteria 2 ND*, Baltimore & WILKINS, 1980. p. 51-8.
 23. MARRIE, T.J.; KWAN, C.; MOBLE, M.A.; WEST, A. & DUFFIELD, I. - *Staphylococcus saprophyticus* as a cause of urinary tract infections *J. clin. Microbiol.*, 16(3):427-31, 1982.
 24. MENDES, C.M.F.; GOES SIQUEIRA, L.F. & FRANCISCO, W. - Rapid automated identification of novobiocin resistant, coagulase-negative staphylococci. *J. clin. Microbiol.*, 22(2):316-7, 1987.
 25. NICOLLE, L.E.; HOBAN, S.A. & HARDING, G.K.M. - Characterization of coagulase-negative staphylococci from urinary tract specimens. *J. clin. Microbiol.* 17(2):267-71, 1983.
 26. PICKETT, D.A. & WELCH, D.F. - Recognition of *Staphylococcus saprophyticus* in urine cultures by screening colonies for production of phosphatase. *J. clin. Microbiol.*, 21(3):310-3, 1985.
 27. SACCHI, C.T.; TONDELLA, M.L.C.; BRANDILEONE, M.C.C.; MELLES, C.E.A. & PAULA, M.D.N. - *Corynebacterium diphtheriae* isolada de sangue. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):73-9, 1985.
 28. SCHLEIFER, K.H. & KLOOS, W.E. - Isolation and characterization of staphylococci from human skin. I. Amended description of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and descriptions of three new species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus xylosum*. *Int. J. syst. Bacteriol.*, 25:50-61, 1975.
 29. SCHLEIFER, K.H. & KLOOS, W.E. - A simple test system for the separation of staphylococci from micrococci. *J. clin. Microbiol.*, 1(3):337-8, 1975.
 30. SEWELL, C.M.; CLARRIDGE, J.E.; YOUNG, E.J.; & GUTHRIE, R.K. - Clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *J. clin. Microbiol.*, 16:236-9, 1982.
 31. STEVENS, D.L.; JONES, C. - Use of trealose-manitol-phosphatase agar to differentiate *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* from other coagulase-negative *Staphylococcus*. *J. clin. Microbiol.* 20(5):977-80, 1984.
 32. Subcommittee on taxonomy of staphylococci and micrococci recommendation. *Int. Bull. Bacteriol. Nomencl.*, 15:109-10, 1965.
 33. WILKINSON, B.J.; MAXWELL, S. & SCHAUS, S.M. - Classification and characteristics of coagulase-negative, methicillin-resistant staphylococci. *J. clin. Microbiol.*, 12:161-6, 1980.

Recebido para publicação em 10 de março de 1989

