

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
Faculdade De Farmácia  
Disciplina De Trabalho De Conclusão De Curso De Farmácia

**Avaliação do teste Carbapenem Inactivation Method (CIM) na detecção de carbapenemases em Enterobactérias**

Carolina Gomes Siqueira

PORTO ALEGRE, JUNHO DE 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

**Avaliação do teste Carbapenem Inactivation Method (CIM) na detecção de carbapenemases em Enterobactérias**

Carolina Gomes Siqueira

Prof. Dra. Ana Lucia Peixoto de Freitas  
Orientadora

Prof. Dr. Afonso Luís Barth  
Coorientador

Porto Alegre, junho de 2016.

Este trabalho foi escrito segundo as normas da revista "ClinicalandBiomedicalResearch" (CBR), apresentadas em anexo. (Anexo 1)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais, Troiano e Vânia, pelo amor, carinho, educação e apoio durante toda minha vida e principalmente nestes anos de graduação.

Aos meus irmãos, Ana Alice e Eduardo, pela amizade e carinho que sempre estiveram presentes na nossa vida.

Ao meu noivo Rodrigo, agradeço pela compreensão nessa etapa da minha vida, pelo amor e companheirismo.

Aos professores Dra Ana Lucia Peixoto de Freitas e Dr Afonso Luis Barth, meu agradecimento especial, pela orientação, ensinamentos, paciência e, principalmente, pela amizade nestes anos de graduação.

Agradeço à Fernanda Emeli Klei Silva , pela ajuda, carinho e amizade que foi muito importante na minha vida acadêmica.

Agradeço aos que de contribuíram para que a esta minha conquista acontecesse.

À todos, o meu muito obrigada!

# Avaliação do teste carbapenem inactivation method (cim) na detecção de carbapenemases em enterobactérias

Carolina Gomes Siqueira<sup>1</sup>, Ana Lucia Peixoto de Freitas<sup>1</sup>, Afonso Luís Barth<sup>1,2</sup>

1. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

2. Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana (LABRESIS), Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

## RESUMO

**Introdução:** O aparecimento de cepas multirresistentes em enterobactérias é cada vez mais frequente e tem sido motivo de preocupação em hospitais e instituições de saúde por todo o mundo, devido às opções terapêuticas restritas. Por isso metodologias precisas, rápidas e confiáveis são necessárias para a detecção dessas carbapenemases. Este trabalho teve como objetivo avaliar um teste fenotípico: Carbapenem Inativação Method (CIM), que foi desenvolvido para detectar a atividade carbapenemase em bacilos gram-negativos no prazo de oito horas.

**Método:** Um total de 29 isolados positivos para carbapenemase, e 28 com ausência de genes de resistência aos carbapenêmicos, previamente identificados por RT-PCR multiplex, foram testados através da metodologia do CIM e com modificações, incluindo aumento do tempo de contato e adição de zinco.

**Resultados:** Os resultados foram avaliados nos testes modificados. A maioria dos isolados negativos para carbapenemase mostraram resultado esperado, havendo formação de halo de inibição. Para os isolados positivos com genes KPC os testes mostraram resultados adequados, mas aqueles com gene NDM só foram positivos após a adição de zinco.

**Discussão:** Somente com as modificações adicionais (agitação para total imersão do antibiótico na suspensão bacteriana, aumento do tempo de contato do meropenem com a bactéria e adição de zinco na suspensão de bactérias do tipo metalo- $\beta$ -lactameses) é que obtivemos os resultados esperados.

**Conclusão:** Este estudo mostrou que o CIM é um método simples e prático mas não pode ser considerado rápido para detecção de carbapenemases, porque necessita de pelo menos 8 a 10 h para obter o resultado, devido aos períodos de incubação para ação do antibiótico e crescimento da E.coli no teste.

**Palavras-chaves:** Carbapenemases, carbapenêmicos, resistência, CIM, enterobactérias, meropenem

## ABSTRAT

**Introduction:** The emergence of multiresistant strains of Enterobacteriaceae is increasingly common and has been a concern in hospitals and healthcare facilities worldwide due to limited treatment options. So accurate, fast and reliable methods are needed to detect these carbapenemases. This work aimed to evaluate a phenotypic test: carbapenems Inactivation Method (CIM), which was developed to detect carbapenemase activity in gram-negative bacilli within eight hours.

**Method:** A total of 29 isolates positive for carbapenemase, and 28 isolates with no resistance genes, previously identified by RT-PCR multiplex were tested by CIM methodology and additional modifications such as increase of incubation and addition of zinc.

**Results:** The results were evaluated in the modified test. Most negative isolates for carbapenemase showed expected result, the formation of inhibition zone. Positive isolates with KPC genes gave expected results but those with NDM requires zinc to antibiotic degradation.

**Discussion:** Only with additional modifications (agitation for full antibiotic immersion in the bacterial suspension, increased meropenem contact time with the bacteria and addition of zinc in the suspension of bacteria of metallo- $\beta$ -lactamases type) is that we obtained the expected result.

**Conclusion:** This study demonstrated that MIF is a simple and convenient method but can not be considered fast to carbapenemases detection, because it requires at least 8 to 10 hours to obtain results due to the incubation period for the antibiotic and growth action *E. coli* the test.

**Keywords:** carbapenemases, carbapenems, resistance, CIM, Enterobacteriaceae meropene

## INTRODUÇÃO

A família *Enterobacteriaceae* é composta por bacilos Gram negativos capazes de fermentar glicose. São importantes patógenos comunitários e hospitalares, que podem causar uma grande variedade de infecções como as do trato urinário, gastroenterites, pneumonias além de meningites e bacteremias<sup>1</sup>. Da mesma maneira que outros Bacilos Gram negativos, os membros da família *Enterobacteriaceae* podem adquirir resistência a diferentes classes de antimicrobianos por quatro mecanismos fundamentais: alteração na permeabilidade de membrana; mutações alvo do antimicrobiano; produção de enzimas capazes de degradar estes fármacos; e mecanismos de efluxo<sup>2</sup>.

Entre esses mecanismos, a produção de enzimas é o mais importante para o desenvolvimento de resistência em enterobactérias, em especial as  $\beta$ -lactamases, já que os fármacos degradados por estas,

os  $\beta$ -lactâmicos, são o tratamento de escolha para infecções por microorganismos desta família<sup>3</sup>. As carbapenemases apresentam um espectro de ação muito mais abrangente que outras enzimas que hidrolisam os beta-lactâmicos, porque além de hidrolisar os antibióticos carbapenêmicos, também são ativas sobre penicilinas e cefalosporinas<sup>4</sup>.

As carbapenemases foram classificadas, de acordo com Ambler, com base na sua estrutura molecular, e foram divididas em três classes: A, B e D<sup>5</sup>. Esta classificação tem correspondência com a de Bush, Jacoby e Medeiros que leva em consideração os substratos e os inibidores de cada tipo de enzima<sup>6,7</sup>.

Classe A inclui as enzimas KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) e GES (Guiana de espectro estendido  $\beta$ -lactamase), e apresentam um resíduo serina no sítio ativo e são normalmente inibida in vitro por ácido fenilborônico (PBA)<sup>8</sup>. As enzimas de Classe B compreendem as Metallo- $\beta$ -lactamases (MBLs), que incluem as NDM (Nova Deli metalo- $\beta$ -lactamase), IMP (imipenemase) e VIM (Verona Integron-Mediated Metallo- $\beta$ -lactamase). Estas enzimas têm um íon de zinco no seu local ativo e, por conseguinte, podem ser inibidas por agentes quelantes, tais como EDTA, uma característica que é explorada em ensaios fenotípicos<sup>9,10</sup>. A Classe D inclui as oxacilinas, que têm uma capacidade hidrolítica menos pronunciada, em comparação com outras carbapenemases. A oxacilina mais relevante entre *Enterobacteriaceae* é OXA-48, que está relacionada com falha terapêutica quando existem outros mecanismos de resistência, tais como impermeabilidade da membrana e de efluxo<sup>11</sup>.

O aparecimento de cepas multirresistentes em enterobactérias é cada vez mais frequente e tem sido motivo de preocupação em hospitais e instituições de saúde por todo o mundo, devido às opções terapêuticas restritas. Os pacientes infectados ou colonizados por isolados resistentes aos carbapenêmicos são difíceis de tratar e tendem a ter uma estadia prolongada em unidades de saúde<sup>12</sup>. Portanto, metodologias precisas, simples e rápidas para detecção de carbapenemases são necessárias, não somente para direcionar o tratamento do paciente, mas também para nortear medidas para evitar a disseminação de isolados carbapenemase-positivo.

Por muitos anos, o Teste de Hodge modificado foi recomendado pelo Instituto Clinical and Laboratory Standards (CLSI) como método de triagem fenotípica para detecção carbapenemase, apesar do fato de que pode apresentar sensibilidade e especificidade reduzida e de que fornece resultados demorados<sup>13</sup>. O método padrão-ouro para a detecção carbapenemase são os testes genotípicos, incluindo PCR e sequenciamento de DNA. Estas metodologias apresentam grande sensibilidade e especificidade, mas podem ter custo maior que os métodos fenotípicos, além de serem demorados e requererem equipamento especial<sup>14,15,16</sup>.

Levando em consideração a necessidade de detectar carbapenemases rapidamente e de maneira precisa, este estudo tem como objetivo avaliar um teste fenotípico recentemente descrito por Kim van der Zwaluw et al.: Carbapenem Inativação Method (CIM)<sup>16</sup>. Este método foi desenvolvido para detectar a atividade carbapenemase em bacilos gram-negativos no prazo de oito horas.

## MÉTODOS

Foram utilizados isolados de um estudo de vigilância epidemiológica para monitoramento de enterobactérias com sensibilidade reduzida aos carbapenêmicos de amostras clínicas do período de abril/2013 a abril/2015 (estudo aprovado pelo GPPG do HCPA N° 130469). Os isolados bacterianos foram submetidas à extração de DNA e a detecção dos principais genes de carbapenemases (*bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>OXA-48-like</sub> e *bla*<sub>VIM</sub>) foi realizada por RT-PCR multiplex conforme a técnica descrita por Monteiro et al.<sup>15</sup>.

Foram selecionadas 29 isolados com resultado positivo para carbapenemase, sendo 15 KPC, 8 NDM, 2 OXA-48, 2 GES, 1 IMP e 1 VIM, e 28 isolados com ausência de genes de resistência aos carbapenêmicos.

O teste CIM foi realizado conforme técnica descrita por Kim van der Zwaluw et al.<sup>16</sup> com algumas modificações. Resumidamente, os isolados foram semeados em ágar MacConkey e incubados por 18h, em estufa bacteriológica. A partir do crescimento foi feita uma suspensão bacteriana densa em 400 µL de água na qual foi colocado um disco de meropenem 10 ug (usado no teste sensibilidade por disco difusão). Após incubação por 4 horas a 35°C o disco foi removido com auxílio de uma alça bacteriológica e colocado na superfície de uma placa de Mueller-Hinton previamente inoculada com *E.coli* suscetível ao meropenem (ATCC29522). Os diâmetros dos halos de inibição formados foram lidos após 6 e 18h de incubação. Os tubos de eppendorf com a suspensão bacteriana e o disco foram agitados para garantir imersão completa do disco.

Para os isolados NDM e VIM foi feita uma modificação, adicionando Zinco em concentração 0,1mM na água usada para suspender a bactéria, buscando determinar se o mesmo é necessário para atuação das Metallo-β-lactamases.

## RESULTADOS

Os resultados dos testes realizados conforme a metodologia descrita<sup>16</sup> revelou vários resultados incompatíveis, o que levou a repetição tomando especial cuidado para garantir a imersão dos discos de meropenem na suspensão bacteriana e aumentando o tempo de contato da bactéria com o antibiótico de



2 para 4 horas. Assim, os resultados deste trabalho se referem aos obtidos com estas modificações, como descrito em Métodos.

A maioria dos testes com amostras negativas para genes de carbapenemase (27/28) mostraram o resultado esperado, ou seja, foi observada formação de halos de inibição (19 a 23mm) indicando que o antibiótico não foi degradado.

Nos testes com isolados positivos (total 29), 15 tinham gene de KPC e 14 destes isolados forneceram resultado positivo: degradaram o meropenem, não havendo formação de halo de inibição do crescimento da *E.coli*. O teste de resultado incompatível era *Klebsiella pneumoniae* e revelou pequeno halo de inibição (12 mm).

Por outro lado, entre os 8 isolados com gene NDM, apenas um foi capaz de degradar o antibiótico, correspondendo a única *Providencia rettgeri* testada neste estudo. Isolados portadores de outros genes de carbapenemase tiveram comportamento variado: apenas um de dois isolados OXA-48 deu resultado positivo; os dois isolados GES deram resultado negativo, um VIM negativo e um isolado IMP teve resultado positivo para degradação do meropenem.

A modificação do teste realizada para os isolados com genes de Metallo- $\beta$ -lactamases, com adição de zinco na suspensão bacteriana onde foi colocado o disco de meropenem, teve o impacto esperado resultando positividade em 7 de 8 isolados NDM mas sem alteração do teste com o isolado VIM que se manteve negativo. O isolado que, mesmo com a adição de zinco, formou halo de inibição de 12 mm, corresponde a um *E. cloacae complex*.

## DISCUSSÃO

O método Carbapenem Inativação Method (CIM) foi desenvolvido com intuito de detectar carbapenemases de maneira precisa, rápida e com baixo custo.

O teste realizado no mesmo tempo de incubação que Kim van der Zwaluw et al.<sup>16</sup>, ou seja, 2 horas de contato entre o disco de antibiótico e a bactéria e 4 horas de incubação da placa semeada com *E. coli* ATCC29522, não forneceram os resultados esperados, visto que nem todos os isolados positivos para carbapenemase degradaram o meropenem. Foi avaliado que esta discrepância poderia ser devido a dois fatores: a falta de contato do disco com a bactéria, pois foi observado que vários discos estavam na superfície do líquido ao final da incubação, e a insuficiência de tempo para haver degradação total do meropenem. Assim, foram testadas modificações, garantindo a imersão do disco por agitação do tubo e aumentando o tempo de contato do disco com a suspensão bacteriana de 2 para 4 horas. Com esta alteração, os resultados obtidos foram conforme o esperado, positivas para a maioria dos isolados com

gene KPC, demonstrando a validade das modificações propostas. Já nos isolados com genes OXA-48, GES e IMP não foi possível uma avaliação adequada ao pequeno número de isolados testados.

Por outro lado, o comportamento dos isolados com gene NDM e VIM, ambos metalo- $\beta$ -lactamase, se mantiveram inadequados e mesmo após as modificações não houve degradação do antibiótico, o que poderia ser devido à falta de zinco, sabidamente indispensável para atuação da enzima. Para avaliar esta hipótese foi realizado um teste com a adição de zinco na suspensão bacteriana na qual o disco foi colocado. Estudo de Kim van der Zwaluw et al.<sup>16</sup> mostrou não haver benefício na adição de solução de sulfato de zinco na suspensão, em oposição a nosso estudo no qual essa modificação, alterou os resultados (1 em 8 positivos) para 7 em 8 isolados positivos. Em nosso estudo os isolados com o gene NDM degradaram o antibiótico quando na presença de zinco, resultando em ausência do halo de inibição; um único isolado que apresentou halo de 12 mm, foi identificado como um *E. cloacae complex*. Já para o gene VIM estes resultados não podem ser avaliados porque apenas uma amostra foi testada.

Segundo Kim van der Zwaluw et al.<sup>16</sup>, o método CIM é capaz de detectar a produção de carbapenemase em Gram-negativos, sendo um teste de baixo custo que não requer nenhum equipamento especializado, reagentes ou habilidade para execução. Já Tijet et. al.<sup>18</sup>, mesmo confirmando a precisão do método, salientam que na prática os resultados serão obtidos no dia seguinte já que as placas serão incubadas durante a noite, não sendo real o período de incubação de 8 h reivindicado por Kim Van der Zwaluw et al.<sup>16</sup>. Do mesmo modo, nosso estudo avalia que este método é simples e prático mas não pode ser considerado rápido porque necessita de pelo menos 8 a 10 h para obter o resultado, devido aos períodos de incubação para ação do antibiótico e crescimento da *E.coli* no teste.

Nosso estudo demonstrou que, considerando todos os grupos de carbapenemase, o teste não possui a sensibilidade referida por Kim van der Zwaluw et al. e Tijet et al.<sup>16,18</sup>

Finalmente, a questão da necessidade de zinco no teste parece fundamental para os isolados com metalo- $\beta$ -lactamases. Além disso, deve ser avaliada a influência desse metal nos isolados com enzimas de outras classes. Contudo, para que possamos determinar com segurança a validade do método, é necessário testar com um maior número de amostras pertencentes a várias classes de carbapenemase.

## REFERÊNCIAS

- Abbott SL. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae*. In: Versalovic J, Carroll KC, et al., editors. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press; 2011.
- Barth AL. Et al. Resistência Bacteriana. In: Barros E, Machado A, et al., editors. Antimicrobianos: consulta rápida. 5th ed. Porto Alegre: Artmed; 2013.
- Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. The American Journal of Medicine. 2006;119(6):62-70.
- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile  $\beta$ -Lactamases. Clin microbiol rev. 2007;20(3):440–458
- Ambler RP. The structure of  $\beta$ -lactamase. Philos trans royal soc Lon.;Ser B;Biol sci. 1980;289(36):321-331.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39(6):1211-1233.
- Bush K, Jacoby GA. Update functional classification of beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(3):969-976.
- Pasteran F, Mendez T, Guerreiro L, Rapoport M, Corso A. Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of Enterobacteriaceae. Journal of Clinical Microbiology. 2009;47(6):1631-1639.
- Lucena A, Dalla Costa LM, Nogueira Kda S, Matos AP, Gales AC, Raboni SM. Comparison of Phenotypic Tests for the Detection of Metallo-beta-lactamases in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosas*. Enferm Infecc Microbiologia Clinical 2014; 32(10):625-630.

- Shivaprasad A, Antony B, Shenoy P. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Metallo-beta-Lactamase and Carbapenemase Production in *Acinetobacter baumannii*. Journal of Clinical Diagnostic Research 2014; 8(5):05-08.
- Jacoby GA, Munoz-Price LS. The New  $\beta$ -lactamases. The New England Journal of Medicine 2005; 352(4): 380- 391.
- Lee C, Cho IH, Jeong BC, Lee SH. Strategies to Minimize Antibiotic Resistance. Int j environ res public health. 2013;10(9):4274-4305.
- Girlich D, Poirel L, Nordman P. Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in Enterobacteriaceae. J clin microbiol. 2012;50(2):477-479.
- Bradford PA, Bratu S, Urban C, Visalli M, Mariano N, Landman D, et al. Emergence of Carbapenem-Hydrolyzing KPC-2 and 187 Inhibitor-Resistant TEM-30  $\beta$ -lactamases in New York City. Clinical Infectious Diseases 2004;39(1):55-60.
- Monteiro J, Widen RH, Pignatari ACC, et al. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. J Antimicrob Chemother . 2012;67(4):906-909.
- Tenover FC, Canton R, Kopl JA, Ryan J, Weirl F, Ruiz-Garbajosa P. Detection of Patients Colonized with Carbapenemases-Producing Gram-Negative Bacilli Using the Xpert MDRO Assay. Journal of Clinical Microbiology 2013;51(11):3780-3787.
- Zwaluw KV, Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, Neeling AJ, Schouls LM. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NPtest to assess phenotypic carbapenemase activity in Gram-negative rods. PLoS One 2015; 10:1371.
- Tijet N, Boyd D, Patel SN, Mulvey MR, Melano RG. Evaluation of the Carba NP Test for Rapid Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob agents chemother. 2013;57(9):4578–4580.

## **ANEXO 1**

### ***Instruções aos Autores***

#### **Escopo e política**

A ClinicalandBiomedicalResearch (CBR), antiga Revista HCPA, é uma publicação científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FAMED/UFRGS). É um periódico científico de acesso livre que tem a finalidade de publicar trabalhos de todas as áreas relevantes das Ciências da Saúde, incluindo pesquisa clínica e básica. Os critérios de seleção para publicação incluem: originalidade, relevância do tema, qualidade metodológica e adequação às normas editoriais da revista.

A CBR apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) [<http://www.who.int/ictcp/en/>] e do InternationalCommitteeof Medical JournalEditors (ICMJE) [[http://www.icmje.org/clin\\_trial.pdf](http://www.icmje.org/clin_trial.pdf)]. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido número de identificação do Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) <http://www.ensaiosclinicos.gov.br> ou de outro banco de dados oficial dedicados ao registro de ensaios clínicos.

Todos os artigos publicados são revisados por pares anônimos. Uma vez que o artigo seja aceito para publicação, os seus direitos autorais são automaticamente transferidos para a revista. O conteúdo do material enviado para publicação na CBR implica que o mesmo não tenha sido publicado e não esteja submetido a outra revista. Artigos publicados na CBR, para serem publicados em outras revistas, ainda que parcialmente, necessitarão de aprovação por escrito dos editores. Os conceitos e declarações contidos nos trabalhos são de total responsabilidade dos autores. Os artigos podem ser redigidos em

português, inglês ou espanhol. As submissões em inglês são fortemente encorajadas pelos editores.

O manuscrito deve enquadrar-se em uma das diferentes categorias de artigos publicados pela revista, conforme a seguir:

### **Forma e preparação de artigos**

#### **SERÃO CONSIDERADOS PARA PUBLICAÇÃO**

##### **Editorial**

Comentário crítico e aprofundado, preparado a convite dos editores e submetido por pessoa com notório saber sobre o assunto abordado. Os editoriais podem conter até 1000 palavras. Esta seção pode incluir o editorial de apresentação da Revista, assinado pelo Editor, além de editoriais especiais, que compreendem colaborações solicitadas sobre temas atuais ou artigos publicados na Revista.

##### **Artigos de Revisão**

Artigos que objetivam sintetizar e avaliar criticamente os conhecimentos disponíveis sobre determinado tema. Devem conter até 6.000 palavras. Esses artigos devem apresentar resumo, não estruturado com número não superior a 200 palavras (exceto revisões sistemáticas – ver estrutura de resumo em ‘Artigos Originais’) e uma lista abrangente, mas preferencialmente não superior a 80 referências.

Tabelas devem ser incluídas no mesmo arquivo do manuscrito (após as referências) e as figuras devem ser enviadas como documento suplementar em arquivos individuais.

##### **Artigos Especiais**

Manuscritos exclusivamente solicitados pelos editores, sobre tema de relevância científica, a autores com reconhecida expertise na área e que não se enquadrem nos critérios de Editorial.

##### **Artigos Originais**

Artigos com resultados inéditos de pesquisa, constituindo trabalhos completos que contêm todas as informações relevantes que o leitor possa avaliar seus resultados e conclusões, bem como replicar a pesquisa. A sua estrutura formal deve apresentar os tópicos: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão. A(s) conclusão(ões) deve(m) estar no último parágrafo da Discussão, não sendo necessária uma seção específica. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser apontadas. Para os artigos originais, deve-se apresentar um resumo estruturado (Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões) em português e em inglês (Abstract), nos casos em que o artigo não for escrito na sua totalidade na língua inglesa. O Resumo e o Abstract não devem exceder 250 palavras.

Os artigos submetidos nesta categoria não devem exceder 3.000 palavras. Tabelas devem ser incluídas no mesmo arquivo do manuscrito (após as referências) e as figuras devem ser enviadas como documento suplementar em arquivos individuais.

## **Relatos de Casos**

São artigos baseados em casos peculiares e comentários sucintos sobre a importância do caso em relação ao conhecimento atual na área. Devem conter até 1.000 palavras, com um total de, no máximo, duas tabelas ou figuras e 15 referências, já que o objetivo dos relatos não é apresentar uma revisão bibliográfica.

A sua estrutura deve apresentar os seguintes tópicos: Introdução, explicando a relevância do caso; Apresentação do caso (Relato do Caso) e Discussão. Os relatos de casos devem descrever achados novos ou pouco usuais, ou oferecer novas percepções sobre um problema estabelecido. O conteúdo deve limitar-se a fatos pertinentes aos casos. O sigilo em relação à identificação dos pacientes é fundamental, não devendo ser relatadas datas precisas, iniciais ou qualquer outra informação não relevante ao caso, mas que eventualmente possa identificar o paciente. Os Relatos de Caso devem ter Resumo não estruturado com no máximo 150 palavras. Tabelas devem ser incluídas no mesmo arquivo do manuscrito (após as referências) e as figuras devem ser enviadas como documento suplementar em arquivos individuais.

## **Relatos de Casos: Imagens em Medicina**

Seção destinada à publicação de Imagens elucidativas, não usuais e/ou de amplo interesse de situações médicas. Deve conter até 500 palavras e um total de 5 referências. Duas a três imagens (resolução mínima de 300 dpi).

## **Cartas**

Opiniões e comentários sobre artigo publicado na Revista, sobre temas de relevância científica e/ou observações clínicas preliminares. O texto deve ser breve com, no máximo, 500 palavras. Apenas uma tabela e uma figura são permitidas e, no máximo, cinco referências. Não devem ter resumo.

## **Comunicações Breves**

Comunicações breves são resultados preliminares de pesquisas originais ou estudos mais pontuais que contêm todas as informações relevantes para que o leitor possa avaliar os seus resultados e conclusões, bem como replicar a pesquisa. A estrutura é semelhante a artigos originais; no entanto, o resumo (Português, Espanhol, ou Inglês) não deve exceder 150 palavras e o texto não deve exceder 1.200 palavras. Ter no máximo duas Tabelas ou Figuras.

## **Suplementos**

Além dos números regulares, a CBR publica o suplemento da Semana Científica do HCPA.

## **CONFLITOS DE INTERESSE**

Conflitos de interesse surgem quando o autor tem relações pessoais ou financeiras que influenciam seu julgamento. Estas relações podem criar tendências favoráveis ou desfavoráveis a um trabalho e prejudicar a objetividade da análise. Os autores devem informar sobre possíveis conflitos de interesse. Isso se estende para editoriais e artigos de revisão, e deve ser feito na ocasião do envio do manuscrito. Cabe ao editor decidir se esta informação deve ou não ser publicada e usá-la para tomar decisões editoriais. Uma forma comum de conflito de interesse é o financiamento de trabalhos de pesquisa por terceiros, que podem ser empresas, órgãos públicos ou outros. Esta obrigação para com a entidade financiadora pode levar o pesquisador a obter resultados que a satisfaçam, tornando o estudo tendencioso. Autores devem descrever a interferência do financiador em qualquer etapa do estudo, bem como a forma de financiamento e o tipo de relacionamento estabelecido entre patrocinador e autor. Os autores podem optar por informar nomes de pareceristas para os quais seu artigo não deva ser enviado, justificando-se.

## **PRIVACIDADE E CONFIDENCIALIDADE**

Informações e imagens de pacientes que permitam sua identificação só devem ser publicadas com autorização formal e por escrito do paciente, e apenas quando necessárias ao objetivo do estudo. Para a autorização formal, o paciente deve conhecer o conteúdo do artigo e ter ciência de que este artigo poderá ser disponibilizado na internet. Em caso de dúvida sobre a possibilidade de identificação de um paciente, como fotos com tarjas sobre os olhos, deve ser obtida a autorização formal. No caso de distorção de dados para evitar identificação, autores e editores devem assegurar-se de que tais distorções não comprometam os resultados do estudo.

## **EXPERIÊNCIAS COM SERES HUMANOS E ANIMAIS**

Toda matéria relacionada com pesquisa em seres humanos e pesquisa em animais deve ter aprovação prévia de Comitê de Ética em Pesquisa ou Comissão de Ética no uso de animais, respectivamente. Os trabalhos deverão estar de acordo com as recomendações da Declaração de Helsinque (vigente ou atualizada), das Resoluções CNS 196/96 e complementares e da Lei 11.794/2008 para estudos em animais. É importante indicar o número do registro do projeto no respectivo Comitê ou Comissão de Ética, bem como da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, se aplicável.

## **PREPARO DO ARTIGO**

O cadastro no sistema e posterior acesso ou login são obrigatórios para submissão e verificação do estágio das submissões.

**Identificação:** devem constar: a) Título do artigo, que deve ser claro e conciso. Não usar abreviaturas. Deve-se apresentar a versão do título reduzido para constar no cabeçalho e título no idioma inglês; b) nome completo dos autores; c) instituição e o setor ou unidade da instituição a que cada autor está



filiado (títulos pessoais e cargos ocupados não deverão ser indicados); d) nome da instituição onde o trabalho foi realizado; e) indicação do autor responsável pela correspondência, acompanhada do endereço completo; e f) se tiver sido apresentado em reunião científica, deve-se indicar o nome do evento, o local e a data da realização.

TODOS OS NOMES DOS AUTORES INCLUÍDOS NO MANUSCRITO DEVEM SER CADASTRADOS NO SISTEMA

**Resumo e Palavras-chave:** os artigos devem conter o resumo em português e em inglês. Verificar a estrutura e o número máximo de palavras conforme descrito para cada tipo de artigo específico (ver anteriormente). Os resumos estruturados, exigidos apenas para os artigos originais, devem apresentar, no início de cada parágrafo, o nome das subdivisões que compõem a estrutura formal do artigo (Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões). As palavras-chave, expressões que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de 3 a 10, fornecidas pelo autor, baseando-se no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) publicado pela Bireme, que é uma tradução do MeSH (Medical Subject Headings) da National Library of Medicine, disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br>. As palavras-chave devem ser apresentados em português e em inglês.

**Manuscrito:** deverá obedecer à estrutura exigida para cada categoria de artigo. Citações no texto e as referências citadas nas legendas das tabelas e das figuras devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto, com algarismos arábicos. As referências devem ser citadas no texto sobrescritas, conforme o exemplo: Texto<sup>1</sup>.texto<sup>1-3</sup>, texto<sup>4,6,9</sup>.

**Tabelas:** devem ser numeradas consecutivamente, com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto e encabeçadas por um título apropriado. Devem ser citadas no texto, mas deve-se evitar a duplicação de informação. As tabelas, com seus títulos e rodapés, devem ser autoexplicativas. As abreviações devem ser especificadas como nota de rodapé sem indicação numérica. As demais notas de rodapé deverão ser feitas em algarismos arábicos e sobrescritas.

**Figuras e gráficos:** as ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos, etc.) devem ser enviadas em arquivos separados, em formato JPG (em alta resolução – no mínimo, 300 dpi). Devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto e serem suficientemente claras para permitir sua reprodução e estarem no mesmo idioma do texto. Não serão aceitas fotocópias. Se houver figuras extraídas de outros trabalhos previamente publicados, os autores devem providenciar a permissão, por escrito, para a sua reprodução. Esta autorização deve acompanhar os manuscritos submetidos à publicação. As figuras devem possuir um título e legenda (se necessário). Ambos devem preceder a figura propriamente dita.

**Abreviações:** as abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. No restante do artigo, não é necessário repetir o nome por extenso.

**Nome de medicamentos:** deve-se usar o nome genérico.

**Havendo citação de aparelhos/equipamentos:** todos os aparelhos/equipamentos citados devem incluir modelo, nome do fabricante, estado e país de fabricação.

**Agradecimentos:** devem incluir a colaboração de pessoas, grupos ou instituições que tenham colaborado para a realização do estudo, mas cuja contribuição não justifique suas inclusões como autores; neste item devem ser incluídos também os agradecimentos por apoio financeiro, auxílio técnico, etc. Devem vir antes das referências bibliográficas.

**Conflitos de interesse:** Caso haja algum conflito de interesse (ver anteriormente) o mesmo deve ser declarado. Caso não haja, colocar nesta seção: “Os autores declaram não haver conflito de interesse”

**Referências:** devem ser numeradas consecutivamente, na mesma ordem em que foram citadas no texto e identificadas com algarismos arábicos. A apresentação deverá estar baseada no formato denominado “*Vancouver Style*”, conforme exemplos abaixo, e os títulos de periódicos deverão ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela ListofJournalIndexed in Index Medicus, da National Library of Medicine e disponibilizados no endereço: <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>. Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências e apenas citados no texto. Caso entendam necessário, os editores podem solicitar a apresentação de trabalhos não publicados citados no manuscrito.

#### **Exemplos de citação de referências:**

##### **Artigos de periódicos (de um até seis autores)**

Almeida OP. A autoria de artigos científicos: o que fazem os tais autores? Rev Bras Psiquiatr. 1998;20:113-6.

##### **Artigos de periódicos (mais de seis autores)**

Slatopolsky E, Weerts C, Lopez-Hilker S, Norwood K, Zink M, Windus D, et al. Calcium carbonate as a phosphate binder in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. N Engl J Med. 1986;315:157-61.

##### **Artigos sem nome do autor**

Cancer in South Africa [editorial]. S Afr Med J. 1994;84:15.

##### **Livros no todo**

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

##### **Capítulos de livro**

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

### **Livros em que editores (organizadores) são autores**

Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental healthcare for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

### **Teses**

Kaplan SJ. Post-hospital home healthcare: the elderly's access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

### **Trabalhos apresentados em congressos**

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

### **Artigo de periódico em formato eletrônico**

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[24 screens]. Available from: [URL: http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm).

### **Outros tipos de referência deverão seguir o documento**

International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals:

Sample References [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

### **Requisitos técnicos**

Arquivo word (doc ou .rtf), digitado em espaço simples, fonte tamanho 10, margem de 2 cm de cada lado, página de título, resumo e descritores, texto, agradecimentos, referências, tabelas e legendas e as imagens enviadas em formato jpg ou tiff com resolução mínima de 300dpi.

*8 jan 2016*