

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

***Candida blankii*: um patógeno emergente de difícil diagnóstico e tratamento clínico**

Leticia Barrey Becker

Porto Alegre, junho de 2019

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

***Candida blankii*: um patógeno emergente de difícil diagnóstico e tratamento clínico**

Leticia Barrey Becker

**Profª. Dra. Adelina Mezzari
Orientadora**

Porto Alegre, junho de 2019

Esse Trabalho de Conclusão de Curso foi redigido sob a forma de artigo ao qual foi elaborado segundo as normas da revista “Clinical & Biomedical Research”, apresentadas em anexo.

***Candida blankii*: um patógeno emergente de difícil diagnóstico e tratamento clínico**

Leticia Barrey Becker¹, Daiane Flores Dalla Lana², Adelina Mezzari¹

¹ Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

² Programa de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

Autor correspondente

Adelina Mezzari (mezzari@ufrgs.br) - Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) Av. Ipiranga, 2752. 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil

RESUMO

O gênero *Candida* possui várias espécies conhecidas, e que podem tornar-se patogênicas em determinadas situações. *Candida blankii* é uma espécie emergente que, na última década, foi identificada como um agente de doenças sistêmicas. Ainda não existe um protocolo de tratamento específico, apesar de que nos poucos casos registrados na literatura a terapia adotada foi efetiva. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica para coletar informações relevantes sobre este patógeno como um possível agente etiológico em infecções sistêmicas, bem como sua epidemiologia e os aspectos de sua patogenicidade.

Palavras-chave: *Candida blankii*; epidemiologia; diagnóstico; suscetibilidade; resistência; tratamento

ABSTRACT

The genus *Candida* has several known species, and may become pathogenic in certain situations. *Candida blankii* is an emerging species that in the last decade has been identified as an agent of systemic diseases. There is no specific treatment protocol yet, although in the few cases reported in the literature the therapy adopted was effective. The objective of this study was to conduct a literature review to collect relevant information about this pathogen as a possible etiological agent in systemic infections, as well as its epidemiology and aspects of its pathogenicity.

Keywords: *Candida blankii*; epidemiology; diagnosis; susceptibility; drug-resistance; treatment

SUMÁRIO

Introdução.....	8
Metodologia	8
Epidemiologia	9
Diagnóstico.....	9
Relatos de caso, suscetibilidade e resistência	10
Terapêutica	12
Alternativas de Tratamento	13
Conclusão	14
Referências Bibliográficas	14
Anexo 1	17

Introdução

O gênero *Candida* possui várias espécies conhecidas, e que podem tornar-se patogênicas em determinadas situações¹. Indivíduos imunocomprometidos, transplantados, recém-nascidos com baixo peso e pacientes em processos quimioterápicos são os mais suscetíveis a doenças invasivas causadas por *Candida* spp. As espécies de *Candida* não-*albicans* são mais comumente observadas na corrente sanguínea e conseqüentemente com maior risco de disseminação para diferentes órgãos, como fígado, baço, ossos e coração². *Candida* spp. são consideradas agentes etiológicos de mais de 80% das infecções nosocomiais. A espécie mais recorrente nessas situações é a *Candida albicans*, porém o aumento significativo de espécies de *Candida* não-*albicans*, principalmente isoladas a partir de hemoculturas, demonstra que essas espécies são clinicamente importantes, com alto risco de infecção sistêmica e resistência à terapêutica antifúngica³.

Candida blankii, uma espécie não-*albicans*, passou a ser relatada a nível hospitalar como patógeno oportunista na última década, sendo responsável por inúmeros processos patológicos, principalmente pulmonares⁴. Conhecida há mais de 50 anos, essa espécie é encontrada normalmente na natureza e em mamíferos⁵. Já foi observada também a presença em queijos artesanais⁵ e outros produtos lácteos⁶. Também é descrita como uma espécie capaz de produzir biofilme, sendo esse um fator agravante para a virulência e patogenicidade da espécie⁴.

Metodologia

Esse estudo de revisão bibliográfica buscou coletar e reunir informações publicadas principalmente nos últimos dez anos e que sejam relevantes à prática clínica, elucidando aspectos epidemiológicos e patológicos da levedura *C. blankii*. Abordagens sobre suscetibilidade e resistência aos agentes antifúngicos e possíveis tratamentos que já foram utilizados.

Os artigos foram selecionados a partir das bases de dados do Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação (CAPES/MEC), da Elsevier Editora (ScienceDirect), da biblioteca virtual de saúde do National Institutes of Health (PubMed) e do Google Acadêmico, no período de março de 2018 a janeiro de 2019. Os termos utilizados nas buscas eletrônicas foram: “*C. blankii*”, “*blankii*”, “*C. blankii*

epidemiology”, “*C. blankii* diagnosis”, “*C. blankii* susceptibility” e “*C. blankii* drug-resistance” e “*C. blankii* treatment”. Os critérios de inclusão contemplaram artigos publicados nos últimos 10 anos, que fossem originais e abordassem temas relevantes e concordantes com o objetivo dessa revisão. Referências bibliográficas que não priorizam a espécie leveduriforme da qual trata o presente estudo e artigos incompletos integraram os critérios de exclusão. Desse modo, o total de 17 estudos foram selecionados e analisados detalhadamente, por atenderem aos critérios acima mencionados.

Epidemiologia

Bedout e Gómez (2010)⁷ demonstraram que *C. blankii* pode causar infecção invasiva, entretanto são desconhecidos os mecanismos de patogenicidade da espécie, assim como a forma de contágio. Sabe-se que todos os pacientes diagnosticados com infecção na corrente sanguínea por *C. blankii* eram imunocomprometidos^{4,8,9}. Existem até o momento três relatos de caso em que foi detectado *C. blankii* como agente etiológico, tendo também outros microrganismos associados à infecção fúngica^{4,8,9}. Observou-se que os pacientes mais acometidos por essa infecção são crianças e adolescentes. Outro fato relatado demonstrou que *C. blankii* pode ser um patógeno oportunista relevante em pacientes com fibrose cística e/ou que tenham realizado transplante de pulmão⁴.

São três os relatos de caso encontrados na literatura, que referenciam a patogenicidade de *C. blankii*, sendo que dois deles ocorreram na América do Sul, um deles no Brasil⁴ e o outro na Argentina⁸. O terceiro relato foi reportado no Kuwait⁹.

Diagnóstico

A identificação por métodos não moleculares ainda não é precisa. Os Isolados clínicos de *C. blankii*, inicialmente desenvolvem colônias cor-de-rosa em meio cromogênico (BBL CHROMagar, BD, Sparks, EUA)⁴, e tardiamente se transforma em azul metálico escuro semelhante à *Candida tropicalis*⁹.

Nóbrega de Almeida et al. (2018)⁴ e Al-Haqgan et al. (2018)⁹ relatam que não foi possível identificar a espécie por espectrometria de massa MALDI-TOF (Vitek MS™, biblioteca IVD, bioMérieux, Marcy-L'Étoile, França). A análise proteômica por espectrometria

de massa MALDI-TOF (MS), utilizando os instrumentos Bruker (Microflex™, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) e bioMérieux (Vitek MS™, bio-Mérieux, Marcy L'Etoile, França), revelou perfis espectrais distintos entre os microrganismos clínicos e aqueles que vivem livres na natureza⁴. Al-Haqan et al. (2018)⁹ reportou que no sistema Vitek, a *C. blankii* foi identificada como *Malassezia furfur*, e em Bruker MS em Standart database não foi identificada. Por mais sensível que seja a técnica utilizada na identificação do patógeno, ainda existe a possibilidade de apresentar um resultado falso positivo para outras espécies.

Um dos métodos de diagnóstico mais fidedignos utilizado em hospitais para fins de diagnóstico clínico é o MALDI-TOF, no entanto uma falha na identificação do patógeno pode vir a comprometer o tratamento do paciente. A utilização de métodos moleculares, como a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido a mais utilizada para a correta identificação dessa levedura^{4,9, 10}.

Relatos de caso, suscetibilidade e resistência

O primeiro relato, ocorreu na Argentina em 2015 e descreve o isolamento de *C. blankii* em amostras do trato respiratório de um paciente de 14 anos com exacerbações repetidas de fibrose cística⁸. No momento em que o paciente começou a apresentar comprometimento clínico e nutricional, foi realizado um lavado bronco alveolar (LBA), que resultou no isolamento da levedura e na identificação a partir de métodos moleculares. Outra cepa isolada posteriormente do mesmo paciente também foi identificada como *C. blankii*¹¹. O paciente foi tratado com itraconazol, tendo resposta adequada⁸.

Em 2016, no Brasil, num paciente de 16 anos com fibrose cística e transplantado de pulmão, foram isoladas 18 espécies de *Candida* spp. juntamente com *Aspergillus*. O paciente estava em tratamento com itraconazol quando foi coletado o escarro para a cultura e identificação das espécies⁹. O diagnóstico nesse caso foi confirmado pelo isolamento repetido da levedura em hemoculturas e, também, na detecção de seu DNA em amostra de soro por biologia molecular, estabelecendo assim o papel etiológico da *C. blankii* como agente de fungemia⁹. Micafungina foi adicionada e resultou em boa resposta terapêutica, pois em 14 dias após o início deste tratamento o paciente recebeu alta⁴.

Recentemente, em 2018, foi relatado no Kuwait, foi reportado um caso de paciente recém-nascido, que mesmo após terapia com anfotericina B, fluconazol e caspofungina, e

alguns antibacterianos como piperaciclina + tazobactama, anfotericina B lipossomal, meropenem, teicoplanina e amicacina, faleceu na UTI pediátrica. A *causa mortis* foi confirmada pela septicemia polimicrobiana causada por patógenos entéricos (*Enterococcus faecalis*) originados possivelmente da enterocolite necrosante, patologia primária, juntamente com a presença de *C. blankii*⁹.

Em dois dos três casos relatados, observou-se a coinfeção com outros microrganismos, relatados na Tabela 1. Um fator que chama a atenção nos três relatos é a faixa etária dos pacientes acometidos, um neonato e dois adolescentes, bem como o comprometimento imunológico (Tabela 1).

Tabela 1. Casos clínicos associados à *C. blankii*.

Idade/ Sexo	Microrganismos relacionados	Doenças relacionadas	Identificação	País	Referências
14 anos Masculino	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Exacerbações pulmonares, fibrose cística	Métodos moleculares	Argentina	Zaragoza et al. (2015) ⁸
16 anos Feminino	18 <i>Candida</i> spp.	Exacerbações pulmonares, transplante de pulmão, sepse	Métodos moleculares (PCR)	Brasil	Nóbrega de Almeida et al. (2018) ⁴
27 semanas Masculino	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	Enterocolite necrosante, septicemia polimicrobiana	Métodos moleculares (PCR)	Kuwait	Al-Haqqa et al. (2018) ⁹

Em todos os três casos foram realizados testes de suscetibilidade aos antifúngicos. No entanto em cada estudo foi utilizada uma metodologia diferente (Tabela 2).

De acordo com Al-Haqqa et al. (2018)⁹ e a CLSI M27-S4, ainda não existem breakpoints aprovados para definirem resistência e susceptibilidade para essa espécie. No relato do paciente de 27 semanas (tabela 1), foi observada uma resistência intrínseca ao fluconazol⁹, ressaltando a necessidade de sua identificação precisa para o manejo terapêutico adequado.

Nesse mesmo caso, altas concentrações de inibição mínimas (CIMs) foram registradas frente a fluconazol e voriconazol, enquanto a anfotericina exibiu atividade *in vitro* mais eficaz (menor CIM). Anidulafungina e micafungina demonstraram atividade limitada, demonstrando uma possível resistência do microrganismo a esses fármacos⁹. Entretanto, fluconazol, anfotericina B, voriconazol, itraconazol, posaconazol, anidulafungina e caspofungina apresentaram baixos valores de CIM para *C. blankii*, pelo método EUCAST E. Def 7.2 (microdiluição em caldo)⁸.

Tabela 2. Suscetibilidade de *C. blankii* frente a diferentes agentes antifúngicos.

Metodologia	Antifúngicos	CIM	Referências
Microdiluição em caldo (EUCAST E. Def 7.2)	Fluconazol	≤ 0,13 µg/mL	Zaragoza et al, 2015 ⁸
	Anfotericina B		
	Voriconazol		
	Itraconazol		
	Posaconazol		
	Anidulafungina		
	Caspofungina		
Microdiluição em caldo (EUCAST E. Def 7.2)	Fluconazol	16 µg/mL	Nóbrega de Almeida et al., 2018 ⁴
	Anfotericina B	0,25 - 0,5 µg/mL	
	Voriconazol	0,5 µg/mL	
	Anidulafungina	0,25 - 1 µg/mL	
	Micafungina	0,25 - 0,5 µg/mL	
E-test	Fluconazol	12-16 µg/mL*	Al-Haqqaan et al., 2018 ⁹
	Anfotericina B	0,125 µg/mL	
	Voriconazol	0,19 - 0,38 µg/mL	
	Itraconazol	0,75 µg/mL	

CIM, concentração inibitória mínima; * Resistência intrínseca.

Terapêutica

As condutas terapêuticas empregadas no tratamento dos pacientes que apresentaram infecções por *C. blankii* diferiram nos três casos apresentados pela tabela 1. No primeiro caso o paciente foi tratado com itraconazol, tendo resposta adequada e apresentando melhora clínica⁸.

No segundo caso, o paciente apresentou hemocultura positiva para leveduras após a terapia com itraconazol. O início de uma terapia antimicrobiana profilática com teicoplanina, meropenem, cotrimoxazol e anfotericina B lipossomal, resultou em hipotensão do paciente e consequente suspensão do tratamento antifúngico. A hemocultura do primeiro dia de pós-operatório (momento em que o paciente evoluiu para sepse) foi positiva para leveduras, e foi iniciada terapia com micafungina. Após 72 horas do início da administração de micafungina, as hemoculturas foram negativas para as leveduras e manteve-se o tratamento por 14 dias, com a melhora clínica do paciente.

No caso mais recente, em 2018, fluconazol, vancomicina, anfotericina B, piperacilina + tazobactama, anfotericina B lipossomal, meropenem, teicoplanina e ampicilina foram empregados na terapia, sem nenhuma melhora clínica, resultando em óbito⁹.

Visto que até o presente momento só foram relatados três casos dessa levedura causando infecção na corrente circulatória, os relatos trazem tentativas de tratamentos inespecíficas e diversas, desde a utilização de itraconazol como terapia única, até a utilização de um arsenal combinado de antimicrobianos. Embora essas tentativas tenham surtido efeito em dois casos, não é preditivo de que seja eficaz em todos os casos da doença. Ainda não existe um protocolo de tratamento específico e não é possível afirmar que a farmacoterapia que foi empregada nesses casos seja, de fato, resolutive.

Alternativas de Tratamento

Existem estudos relatando a ação antifúngica de algumas substâncias, que não são fármacos, contra cepa ATCC19735 de *C. blankii*. Extratos de *Annona reticulata* Linn apresentaram efeito inibitório potente¹². Outro estudo relata que *Lactobacillus paracasei* M3 mostrou efeito antifúngico contra esse microrganismo¹³. Quando avaliada a ação do furfural, composto orgânico presente em farelo de cereais, observou-se que ele apresenta um potente efeito inibitório contra *C. blankii*⁷.

Outra substância que teve seu efeito antifúngico testado contra *C. blankii* foi o óleo de anis, que se mostrou não só efetivo como apresentou a sua maior atividade justamente contra essa levedura¹³. Nesse mesmo estudo verificou-se que o óleo essencial de pimenta da Jamaica também tem forte atividade inibitória no crescimento de *C. blankii*. Os óleos de noz-moscada, cássia e tomilho também demonstraram atividade antifúngica contra essa espécie através de

suas atividades inibitória¹³. O potencial inibitório de alguns solventes contra *C. blankii* também foram testados. Frações de n-butanol, clorofórmio e acetona apresentaram potente efeito inibitório¹².

Conclusão

Os relatos de casos envolvendo *C. blankii* em humanos evidenciam a patogenicidade desta espécie, principalmente em pacientes imunocomprometidos.

A problemática da dificuldade de identificação das leveduras a nível de espécie e encontrar informações que se complementem a essa revisão de literatura, pelas restritas publicações minimizam o potencial risco de patogenicidade de *C. blankii*.

Uma padronização do diagnóstico molecular nos casos de infecções por *C. blankii* mostra-se fundamental para estabelecer um panorama epidemiológico que reflita a realidade do número de casos deste agente etiológico.

O isolamento de mais cepas de *C. blankii* permitirá que mais testes de suscetibilidade sejam realizados, de forma a caracterizar a resistência intrínseca ou adquirida por este microrganismo, facilitando uma primeira abordagem antifúngica mais eficaz.

Referências Bibliográficas

1. Radi N, Abdelmonem A. A Study on the Antifungal Effects of Lactobacillus Spp. on Candida Species. The Egyptian Journal of Medical Microbiology. 2017; 26: 25-29. Available from: URL: <http://www.aamj.eg.net/journals/pdf/2509.pdf>.
2. Arendrup MC. Epidemiology of invasive candidiasis. Current opinion in critical care. 2010; 16. 445-52. Available from: URL: https://journals.lww.com/co-criticalcare/Abstract/2010/10000/Epidemiology_of_invasive_candidiasis.9.aspx.
3. Alburquenque C, Beltrán S, Olivares R, Falconer MA, Amaro J, M Fuentes, Tapia CV. Species distribution and susceptibility pattern of Candida spp.: the importance to survey also strains isolated from the community. Revista chilena de infectología, 2013; 30(3): 244-251. Available from: URL: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000300002&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

4. Nóbrega de Almeida J Jr, Campos SV, Thomaz DY, Thomaz L, de Almeida RKG, Del Negro GMB, Gimenes VF, Grenfell RC, Motta AL, Rossi F, Benard G. *Candida blankii*: an emergent opportunistic yeast with reduced susceptibility to antifungals. *Emerging Microbes and Infections*. 2018; 7 (1): 24. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5841406/>.
5. Grizales CL, Duarte D, Escobar J, Perez P, Patiño JA, Fernandez L, Leib CS. Fatal Outcome in a Patient with Cystic Fibrosis and *Candida Blankii* Infection: A Case Report. *ATS Conference 2018 San Diego CA*. Available from: URL: https://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrcm-conference.2018.197.1_MeetingAbstracts.A5594.
6. Kavas G, Kinik O, Uysal H, Kilic S, Kavas N, Akbulut N. Characterisation of Yeasts Isolated from Artisanal Turkish Dairy Products. *International Journal of Dairy Science*. 2010; 1: 44-50. Available from: URL: <https://scialert.net/fulltextmobile/?doi=ijds.2006.44.50>.
7. Bedout C, Gómez B. *Candida* y candidiasis invasora: Un reto continuo para su diagnóstico temprano. *Infectio*. 2010; 14: 97-196. Available from: URL: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v14s2/v14s2a08.pdf>.
8. Zaragoza S, Galanternik L, Vázquez M, Teper A, Córdoba S, Finquelievich J. *Candida blankii*: New agent in cystic fibrosis airways? *Journal of Cystic Fibrosis*, 2015; 14: S140. Available from: URL: DOI: 10.1016/S1569-1993(15)30492-6.
9. Al-Haqqan Um, Al-Sweih N, Ahmad S, Khan S, Joseph G, Varghese S, Khan Z. 2018. Azole-resistant *Candida blankii* as a newly recognized cause of bloodstream infection. *New Microbes and New Infections*. 2018; 26: 25-29. Available from: URL: [https://www.cysticfibrosisjournal.com/article/S1569-1993\(15\)30492-6/pdf](https://www.cysticfibrosisjournal.com/article/S1569-1993(15)30492-6/pdf).
10. Mancini N, De Carolis E, Infurnari L, Vella A, Clementi N, Vaccaro L, Ruggeri A, Posteraro B, Burioni R, Clementi M, Sanguinetti M. Comparative evaluation of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry systems for identification of yeasts of medical importance. *J Clin Microbiol*. 2013; 51 (7): 2453-7. Available from: URL: <https://doi.org/10.1016/j.jnmni.2018.06.008>.
11. Jamkhande P, Wattamwar A, Kankudte A, Tidke P, Kalaskar M. Assessment of *Annona reticulata* Linn. Leaves fractions for in-vitro antioxidative effect and antimicrobial

- potential against standard human pathogenic strains. Alexandria Journal of Medicine. 2016; 52 (1): 19-25. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090506814001201>.
12. Kamble V, Patil S. Spice-Derived Essential Oils: Effective Antifungal and Possible Therapeutic Agents. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants. 2008; 14: 3-4, 129-143. Available from: URL: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10496470802598677>.
 13. Atanassova M, Choiset Y, Dalgalarondo M, Chobert JM, Dousset X, Ivanova I, T Haertlé. 2003. Isolation and partial biochemical characterization of a proteinaceous anti-bacteria and anti-yeast compound produced by *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* strain M3. International journal of food microbiology. 2003; 87: 63-73. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160503000540?via%3Dihub>.
 14. Hristozova T, Gotcheva V, Tzvetkova B, Paskaleva D, Angelov A. Effect of furfural on nitrogen assimilating enzymes of the lactose utilizing yeasts *Candida blankii* 35 and *Candida pseudotropicalis* 11. Enzyme and Microbial Technology. 2008; 43 (3): 284-288. Available from: URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022908001142>.
 15. Khan Z, Ahmad S, Al-Sweih N, José L, Alfouzan W, Asadzadeh M. M. Increasing prevalence, molecular characterization and antifungal drug susceptibility of serial *Candida auris* isolates in Kuwait. PLoS ONE 2018; 13 (4): e0195743. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5891028/>.
 16. Levy I. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. Clinical Infectious Diseases. 1998; 26: 1086-1088. Available from: URL: <https://academic.oup.com/cid/article/26/5/1086/320884>.
 17. Vassileva S, Tzvetkova B. Influence of the Dilution Rate on the Bioproductivity of Lactose-Utilizing Yeasts: Fuzzy Logic Modeling. Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences. 2003; 58: 381-5. Available from: URL: <https://www.degruyter.com/view/j/znc.2003.58.issue-5-6/znc-2003-5-616/znc-2003-5-616.xml>.

ANEXO 1

Instructions for authors

AND POLICY

Clinical and Biomedical Research (CBR), formerly “Revista HCPA”, is a scientific publication from Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) and the School of Medicine of Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FAMED/UFRGS). It is a free access scientific periodic that aims to publish papers from all relevant areas in the Health Sciences, including clinic and basic research. The selection criteria for publication include: originality, relevance of the theme, methodological quality, and adequacy to the journals’ editorial norms.

CBR supports the policies for the registration of clinical trials of the World Health Organization (WHO) [<http://www.who.int/ictcp/en/>] and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) [<http://www.icmje.org/>]. Therefore, CBR will only accept clinical research articles that have received an identification number from the Brazilian Clinical Trials Registry (*Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos* - ReBEC) [<http://www.ensaiosclinicos.gov.br>] or other official database dedicated to the registry of clinical trials.

All published articles are reviewed by peers in a double-blind fashion. Once the article is accepted for publication, its copyrights are automatically transferred to the journal. The content of manuscripts submitted for publication to CBR implies that it has not been published previously and that it has not been submitted to another journal. To be published elsewhere, even in part, articles published in CBR require written approval of the editors. The concepts and declarations contained in the papers are the authors’ full responsibility. The articles may be written in Portuguese, English, or Spanish. The submissions in English are strongly encouraged by the editors.

The manuscript should fit into one of the different categories of articles published by the journal, as follows:

FORM AND PREPARATION OF ARTICLES

The following categories of contributions will be considered for publication

Editorial

Critical and thorough review, prepared at the invitation of the editors, and submitted by an author with renowned knowledge on the subject. Editorials can have up to 1,000 words. This section may include the Journal’s editorial of presentation, signed by the editor, besides special editorials that comprise requested collaborations about current themes or about articles published on the Journal.

Review Articles

Articles that aim to synthesize and critically evaluate the present knowledge on a particular theme. They should contain no more than 6,000 words. These articles should present an unstructured abstract, with no more than 200 words (except for

Instructions for authors

systematic reviews – see abstract structure in ‘Original Articles’) and a comprehensive list, but preferably with no more than 80 references.

Tables should be included in the same manuscript file (after references) and the figures should be submitted as additional documents in individual files.

Special Articles

Manuscripts exclusively requested by the editors, on a subject of scientific relevance, to authors with recognized expertise in the area, and that do not meet the criteria for Editorials.

Original Articles

Articles with unpublished research results, including full-length studies that contain all relevant information so that the reader may evaluate its results and conclusions, as well as replicate the research. Its formal structure should present the following topics: Introduction, Methods, Results and Discussion. The conclusions should be in the last paragraph of the Discussion, not requiring a specific section. Clinical implications and limitations of the study should be mentioned. For original articles, a structured abstract should be presented (Introduction, Methods, Results, and Conclusions) in Portuguese and English, in cases where the article is not written entirely in English. The Abstracts (Portuguese, Spanish, or English) should not exceed 250 words.

Articles submitted in this category should not exceed 3,000 words. Tables should be included together in the same manuscript file (after references) and figures should be submitted as an additional document in individual files.

Case Reports

Articles based on peculiar cases and brief comments on the importance of the case in relation to the existing knowledge in the field. They should contain up to 1,000 words, with a total of no more than two tables or figures and 15 references, once presenting a literature review is not the purpose of the reports.

Their structure should present the following topics: Introduction, explaining the relevance of the case; Presentation of the case (Case Report), and Discussion. Case reports should describe novel or unusual findings, or offer new insights into a given problem. The content should be limited to facts relevant to the case. The confidentiality regarding patient identification is critical, so authors should not report any precise dates, initials, or any other information irrelevant to the case, but that may possibly identify the patient.

Case reports should have an unstructured abstract with no more than 150 words.

Tables should be included in the same manuscript file (after references) and figures should be sent as additional documents in individual files.

Instructions for authors

Case Reports: Images in Medicine

Section devoted to the publication of informative images, which are unusual and/or of broad interest in clinical situations. It should contain no more than 500 words and a total of 5 references. Two to three images (at a resolution of at least 300 dpi).

Letters

Opinions and comments on an article published in the Journal, on subjects of scientific relevance, and/or preliminary clinical observations. The text should be concise, with no more than 500 words. Only one table and one figure are allowed, and a maximum of five references. They should not have an abstract.

Brief Communication

Brief Communications are original but preliminary or more specific research results that contain all relevant information so that the reader may evaluate its results and conclusions, as well as replicate the research. The structure is similar to original articles; however, the Abstracts (Portuguese, Spanish or English) should not exceed 150 words and the text should not exceed 1,200 words. A maximum of two Tables/Figures are accepted.

Supplements

In addition to regular issues, CBR publishes the supplement of the HCPA Science Week.

CONFLICTS OF INTEREST

Conflicts of interest arise when the author has financial or personal relationships that could inappropriately influence their professional judgment. These relationships may create favorable or unfavorable tendencies towards a paper and impair the objectivity of the analysis. Authors must disclose possible conflicts of interest and should be done at the time of submission of the manuscript.

It is at the editor's discretion to decide whether this information should be published or not and whether to use it for editorial decisions. A common form of conflict of interest is the funding of research by third parties who may be companies, government agencies, or others. This obligation to the funding entity may lead the researcher to obtain tendentious results, inappropriately influencing (bias) their work. Authors should describe the interference of the funding entity at any stage of the research, as well as the form of funding, and the type of relationship established between the sponsor and the author. The authors may choose to inform the peer reviewers' names for which their article should not be sent, justifying themselves.

Instructions for authors

PRIVACY AND CONFIDENTIALITY

Information and pictures of patients that allow their identification should only be published with formal written authorization of the patient, and only when necessary for the purpose of the study. For formal authorization, the patient must know the content of the article and be aware that this article may be made available on the Internet. If in doubt about the possibility of identifying a patient, such as in the case of photos with stripes over the eyes, a formal authorization should be obtained. In the case of distortion of data to prevent identification, authors and editors should ensure that such distortions do not compromise the results of the study.

EXPERIENCES WITH HUMANS AND ANIMALS

All content related to research with humans and animals must have previous approval by the Research Ethics Committee or the Animal Ethics Committee, respectively. The works should be in accordance with the recommendations of the Declaration of Helsinki (current or updated), the CNS Resolution n. 466/2012 and its complementary regulations, as well as the Law n. 11.794/2008 for studies in animals. It is important to indicate the number of the project's registration in the respective Committee or Ethics Committee, as well as in the National Committee for Research Ethics, if applicable.

PREPARATION OF THE ARTICLE

The registration on the system as author and subsequent access with login and password are mandatory to submit and verify the status of submissions.

Identification: must include: a) Title of the article, clear and concise. Do not use abbreviations. There should be a version of the reduced title to appear in the header as well as a title in the English language; b) Authors' full names; c) Institution and the sector or unit of the institution to which each author is affiliated (personal titles and positions held should not be mentioned); d) Indication of the corresponding author, accompanied by the electronic address; e) If it has been presented at a scientific meeting, the name of the event, the place, and the date of completion should be indicated.

THE NAMES OF ALL THE AUTHORS OF THE MANUSCRIPT SHOULD BE INDICATED IN THE SYSTEM

Abstract and Keywords: The articles should have an abstract in English. Check the structure and the number of words described for each specific type of article (see above). The structured abstracts, required only for original articles, should present the name of the subdivisions that make up the formal structure of the article at the beginning of each paragraph (Introduction, Methods, Results and

Instructions for authors

Conclusions). The keywords - expressions that represent the subject of the paper - should be in number from 3 to 10, provided by the author, based on the DeCS (Health Sciences Descriptors) published by Bireme, which is a translation from the MeSH (Medical Subject Headings) from the National Library of Medicine, available in the following electronic address: <http://decs.bvs.br>.

Manuscript: it must conform to the structure required for each category of article. Text citations and references cited in the legends of tables and figures should be numbered consecutively in the order they appear in the text, with Arabic numerals. References should be cited in the text as in the example: Reference¹.

Tables: they should be numbered consecutively, with Arabic numerals, in the order they were cited in the text, and headed by a suitable title. They should be cited in the text, but duplicated information should be avoided. The tables, with titles and footnotes, should be self-explanatory. The abbreviations should be specified as footnotes without numerical indication. The remaining footnotes should be numbered in Arabic numerals and written in superscript.

Figures and charts: Illustrations (photographs, charts, drawings, etc.) should be sent in separate articles, in JPG format (at a high resolution – at least, 300 dpi). They should be numbered consecutively with Arabic numerals, in the order they are cited in the text and should be clear enough for reproduction and in the same language as the text. Photocopies will not be accepted. If there are figures extracted from other previously published studies, the authors should provide a written permission for their reproduction. This authorization shall accompany the manuscripts submitted for publication. The figures must have a title and subtitle (if necessary), which should both precede the figure itself.

Abbreviations: abbreviations must be explained at first mention. On the rest of the article, it is not necessary to repeat the full name.

Name of medications: the generic name should be used.

In case of citing appliances/equipment: all appliances/equipment cited should include model, manufacturer's name, state, and country of manufacture.

Acknowledgements: should include the collaboration of people, groups, or institutions that have contributed to the study, but whose contributions do not justify their inclusion as authors; this item should also include the acknowledgements for financial support, technical assistance, etc. This item should come before the references.

Instructions for authors

Conflicts of interest: If there is any conflict of interest (see above), it should be declared. In case there is not, place in this section: “The authors declare no conflicts of interest”

References: should be numbered consecutively, in the order in which they are mentioned in the text, and identified with Arabic numerals. The presentation must be based on a format called “Vancouver Style”, as the examples below, and the titles of journals should be abbreviated according to the style presented by the List of Journal Indexed in Index Medicus, from the National Library of Medicine, available at: <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>. The authors should ensure that the cited references in the text appear in the reference list with exact dates and authors’ names correctly spelt. The accuracy of references is the authors’ responsibility. Personal communications, unpublished or unfinished articles could be cited when absolutely necessary, but should not be included in the reference list and only cited in the text. The submission of the unpublished works mentioned in the manuscript may be requested at the discretion of the editors.

Examples of citing references:

Journal articles (from one to six authors)

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

Journal articles (more than six authors)

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.

Articles without the author’s name

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

Books

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

Chapters from a book

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.

Instructions for authors

Books in which editors (organizers) are authors

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

Theses

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

Papers presented at conferences

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.

Electronic Journal Articles

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>.

Other types of reference should follow the document

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)

Technical requirements

Microsoft Word document (.doc or .rtf), singled space, font size 12, 2-cm margins in each side, title page, abstract and descriptors, text, acknowledgements, references, tables and legends, and the figures should be sent in jpg or tiff at a resolution of at least 300 dpi.

2018 Apr 6