

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA CLÍNICA

Rochele Latronico Beskow

**IMPACTO NO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE CONFORME DIFERENTES
PADRONIZAÇÕES: CLSI x BrCAST-EUCAST**

Porto Alegre

2020

Rochele Latronico Beskow

**IMPACTO NO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE CONFORME DIFERENTES
PADRONIZAÇÕES: CLSI x BrCAST-EUCAST**

Trabalho de conclusão de curso de especialização apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Microbiologia Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Afonso Luís Barth
Coorientadora: Me. Camila Mörschbacher Wilhelm

Porto Alegre

2020

CIP - Catalogação na Publicação

Latronico Beskow, Rochele
IMPACTO NO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE CONFORME
DIFERENTES PADRONIZAÇÕES: CLSI x BrCAST-EUCAST /
Rochele Latronico Beskow. -- 2020.
30 f.
Orientador: Afonso Luís Barth.

Coorientadora: Camila Mörschbacher Wilhelm.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Ciências Básicas da Saúde, Microbiologia Clínica,
Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Antibiograma. 2. CLSI. 3. BrCAST-EUCAST. 4.
Pontos de corte clínicos. 5. Disco-difusão. I. Barth,
Afonso Luís, orient. II. Mörschbacher Wilhelm,
Camila, coorient. III. Título.

RESUMO

Introdução: A utilização da padronização BrCAST-EUCAST é uma nova realidade e apresenta diferenças em relação ao CLSI. **Objetivo:** Avaliar o impacto de duas padronizações no perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos nos antibiogramas do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Métodos:** Aplicaram-se as padronizações CLSI 2020 e BRCASST versão 20/05/20 para categorização dos halos de inibição obtidos por disco-difusão em isolados de *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa*, Complexo *Acinetobacter baumannii* e *Staphylococcus aureus*. **Resultados:** Houve diferença na categorização para pelo menos um antimicrobiano em todos os isolados de *P. aeruginosa* e de *S. aureus*, enquanto para o Complexo *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacterales*, houve diferença para pelo menos um antimicrobiano em 60% e 30% dos isolados, respectivamente. Aplicando o BrCAST nas *Enterobacterales*, aumentou a frequência da categoria I em cefuroxima parenteral (84%), imipenem (10%), levofloxacino (3%), aumentou a categoria sensível (S) em cefuroxima oral e ciprofloxacino (diferença 18% e 6%), ampicilina-sulbactam teve ausência da categorização I (diferença 12%). Houve diferenças nos discos com diferentes concentrações: nitrofurantoína (categoria I para S em 4% de *Escherichia coli*) e piperacilina-tazobactam (categoria resistente [R] aumentou 2%, houve 2% de resultados na área de incerteza técnica [AIT]). O maior impacto no perfil de suscetibilidade foi verificado em *P. aeruginosa*, com resultados I para ceftazidima (94%), cefepima (95%), imipenem (84%), piperacilina-tazobactam (83%), ciprofloxacino e levofloxacino (74%). No Complexo *Acinetobacter baumannii* houve aumento de resultados R para gentamicina (33%), imipenem (10%) e levofloxacino (10%). Em *S. aureus* houve diferença nas fluoroquinolonas com predomínio de resultados I. **Conclusão:** Com a implantação dos pontos de corte do BrCAST, a categorização I passou a ser mais frequente.

Palavras-chave

Antibiograma; CLSI; BrCAST-EUCAST; Pontos de corte clínicos; Disco-difusão.

ABSTRACT

Introduction: The application of BrCAST-EUCAST guidelines is a new reality and it presents differences regarding CLSI. **Objective:** The aim of this study was to assess the impact on the susceptibility profile according to two standardizations on susceptibility testing in Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Methods:** The CLSI 2020 and BrCAST version 05/10/20 standards were applied to categorize the inhibition zone by disk-diffusion in bacterial isolates of *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* Complex and *Staphylococcus aureus*. **Results:** There were differences in the categorization in at least one antimicrobial in all isolates of *P. aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, while for the *Acinetobacter baumannii* Complex and *Enterobacterales* isolates there was difference for at least one antimicrobial in 60% and 30% of isolates, respectively. Applying BrCAST in *Enterobacterales*, category I increased in antibiotics parenteral cefuroxime (84%), imipenem (10%), levofloxacin (3%), increased susceptible (S) category in oral cefuroxime and ciprofloxacin (18% e 6% difference), ampicillin-sulbactam had no results categorized as I (12% difference). There were differences in disk with different concentrations: nitrofurantoin (category I to S in 4% of *E.coli* isolates) and piperacillin-tazobactam (category Resistant [R] increased by 3% and there were 2% of results in Area of Technical Uncertainty (AUT). The greatest impact on susceptibility profile was found in *P. aeruginosa*, with predominance of results I for ceftazidime (94%), cefepime (95%), imipenem (84%), piperacillin-tazobactam (83%), ciprofloxacin and levofloxacin (74%). In *Acinetobacter baumannii* Complex there was an increase in R results for gentamicin (33%), imipenem (10%) and levofloxacin (10%). *S. aureus* had differences in fluoroquinolones with predominance of I results. **Conclusions:** From the implementation of the breakpoints of BrCAST, a valid version from 05/10/20, I categorization became more frequent.

Keywords

Antibiogram; CLSI; BrCAST-EUCAST; Clinical Breakpoints; Disk-diffusion.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
1.1 OBJETIVOS	9
1.1.1 Objetivo geral.....	9
1.1.2 Objetivos específicos.....	9
2 ARTIGO CIENTÍFICO	10
3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....	21
REFERÊNCIAS.....	22
APÊNDICE A – Formulários para coleta de dados	23
ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

A utilização das orientações para interpretação do antibiograma da versão brasileira do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, (EUCAST), chamado *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST), passou a ser obrigatória a todos os laboratórios clínicos brasileiros a partir de dezembro de 2019. (1) Até então, não havia uma regulamentação oficial sobre este tema e a maioria dos laboratórios utilizava a padronização americana do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) para a realização e interpretação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos. O BrCAST tem por objetivo fornecer aos microbiologistas e clínicos uma solução permanente e atualizada para os testes de sensibilidade, disponibilizar documentos em português, e também padronizar, a nível nacional, as normas dos testes de sensibilidade, adaptando os conceitos do EUCAST à realidade dos laboratórios brasileiros (1).

Existem diversas diferenças entre as padronizações do CLSI e do BrCAST, como as diferentes interpretações para as categorias S (sensível e sensível, dose padrão, respectivamente), I (intermediário e sensível, aumentando a exposição, respectivamente), SDD (sensível dose-dependente, existente apenas no CLSI) e R (resistente) (2, 3). Somente no BrCAST existe a área de incerteza técnica (AIT) em algumas combinações de antimicrobianos/microrganismos (4). Os resultados dentro desta área são alertas ao laboratório e indicam que sua interpretação é duvidosa (5). Uma novidade observada na versão válida a partir de 20/05/2020 do BrCAST (documento baseado nos pontos de corte da versão 10.0, 2020 do EUCAST) é a apresentação de pontos de corte arbitrários “fora de escala” (Concentração Inibitória Mínima [CIM] Sensível [S] $\leq 0,001$ mg/L ou diâmetro de halo $S \geq 50$ mm) que categorizam microrganismos do tipo selvagem como Sensível, aumentando a exposição (I), nunca como Sensível, dose padrão (S) a determinados agentes antimicrobianos (3).

Os pontos de corte para disco-difusão e CIM também apresentam diferenças quando comparadas as duas padronizações. Algumas espécies possuem pontos de corte clínicos apenas no CLSI (exemplo: complexo *Burkholderia cepacia*). Há diferenças em outros não-fermentadores como *Stenotrophomonas maltophilia* e *Acinetobacter* spp. que apresentam menos opções de pontos de corte clínicos no BrCAST-EUCAST (2,3). Alguns microrganismos apresentam pontos de corte no BrCAST e não apresentam no CLSI, como exemplo a *Pseudomonas* spp. (2,3). Para muitos microrganismos que não apresentam pontos

de corte clínicos nos documentos do BrCAST, existem tabelas que permitem orientar a conduta clínica através da interpretação baseada em pontos de corte de PK-PD e dosagens (6). O BrCAST também apresenta tabelas de distribuição das CIM e pontos de corte epidemiológicos (ECOFF), que permitem categorizar o microrganismo do tipo selvagem (sem mecanismos de resistência), ou seja, que não apresentam algum tipo de resistência adquirida ou mutacional (6). Além disso, a nova padronização apresenta algumas diferenças técnicas, como diferentes concentrações de alguns discos de antimicrobianos utilizados na técnica de antibiograma e diferentes pontos de corte.

Estudos anteriores em instituições onde ocorreu mudança similar foram realizados para avaliar o impacto no perfil de sensibilidade com a mudança da padronização e chegaram a diferentes conclusões. Um estudo no Hospital General Universitario de Alicante (Espanha) demonstrou que houve uma significativa redução na sensibilidade aos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) tanto em enterobactérias, quanto em *Pseudomonas aeruginosa* aplicando a padronização do EUCAST (7). Também para este mesmo microrganismo, houve redução na sensibilidade às fluoroquinolonas (7). Em *Staphylococcus aureus* foi observada a diminuição na sensibilidade à gentamicina (43,1%) e clindamicina (51,5%) (7). A respeito dos *Enterococcus* spp., mudanças foram observadas apenas para ciprofloxacino que apresentou 100% de sensibilidade quando aplicada a padronização do EUCAST (7).

Outro trabalho no Hospital Universitário de Zurique (Suíça), comparou as mudanças nos acumulados dos antibiogramas das cinco espécies bacterianas mais prevalentes em um período de dois anos (8). Cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* foram avaliadas e a conclusão do estudo mostrou que a mudança da padronização do CLSI para o EUCAST levou a uma redução significativa na sensibilidade da *P. aeruginosa* ao meropenem (de 88,1% para 78,3%), tendo um impacto na escolha da terapia empírica em pacientes com infecções graves (8).

Considerando que a padronização BrCAST-EUCAST é uma nova metodologia em nossa realidade, ainda não existem estudos locais sobre o impacto de sua implantação nos resultados dos antibiogramas no Laboratório do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre. Este hospital público que atende diversas especialidades é referência em trauma para a região metropolitana de Porto Alegre, que é a maior região metropolitana da Região Sul do Brasil

com cerca de 4,3 milhões de habitantes, e a quinta mais populosa do país. Sendo assim, neste trabalho foi avaliado o impacto no perfil de suscetibilidade conforme as padronizações CLSI e BrCAST-EUCAST nesta instituição. Além disso, até o momento não foram encontrados estudos comparando os resultados utilizando discos com concentrações diferentes (preconizados para cada padronização), de modo que o assunto é relevante e este trabalho tem por objetivo contribuir com um conhecimento mais refinado sobre este tema.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar as diferenças nas interpretações dos antibiogramas conforme as padronizações CLSI e BrCAST-EUCAST em isolados da ordem *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. e *Staphylococcus aureus*, testados na rotina do Laboratório do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Analisar os diferentes pontos de corte e suas interpretações aplicando as diferentes padronizações (resultados categorizados como S, R e I) e áreas de incerteza técnica e diferenças na categorização aos antimicrobianos;
- b) Avaliar se as concentrações dos discos afetam o perfil de suscetibilidade quando comparadas as padronizações CLSI e BrCAST-EUCAST.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo Original/Original Article

Impacto no perfil de suscetibilidade conforme diferentes padronizações: *Clinical and Laboratory Standards Institute versus Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

Impact on the susceptibility profile according different standards: *Clinical and Laboratory Standards Institute versus Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

Rochele Latronico Beskow¹

Camila Mörschbacher Wilhelm²

Afonso Luís Barth³

Resumo

Introdução: A utilização da padronização BrCAST-EUCAST é uma nova realidade, e apresenta diferenças em relação ao CLSI. **Objetivo:** Avaliar o impacto no perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos conforme as duas padronizações nos antibiogramas do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Métodos:** Aplicaram-se as padronizações CLSI 2020 e BrCAST versão 20/05/20 para categorização dos halos de inibição obtidos por disco-difusão em isolados de *Enterobacteriales*, *Pseudomonas aeruginosa*, Complexo *Acinetobacter baumannii* e *Staphylococcus aureus*. **Resultados:** Houve diferença na categorização para pelo menos um antimicrobiano em todos os isolados de *P.aeruginosa* e *S.aureus*, enquanto para o Complexo *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacteriales*, houve diferença para pelo menos um antimicrobiano em 60% e 30% dos isolados, respectivamente. Aplicando o BrCAST nas *Enterobacteriales*, aumentou a frequência da categoria I para cefuroxima parenteral(84%), imipenem(10%), levofloxacino(3%), aumentou a categoria sensível(S) em cefuroxima oral e ciprofloxacino(diferença 18% e 6%), ampicilina-sulbactam teve ausência da categorização I (diferença 12%). Houve diferenças nos discos com diferentes concentrações de nitrofurantoína (categoria I para S em 4% de *Escherichia coli*) e piperacilina-tazobactam (categoria resistente[R] aumentou 2%, houve 2% de resultados na área de incerteza técnica[AIT]). O maior impacto no perfil de suscetibilidade foi verificado em *P.aeruginosa*, com resultados I para ceftazidima(94%), cefepima(95%), imipenem(84%), piperacilina-tazobactam(83%), ciprofloxacino e levofloxacino(74%). No Complexo *Acinetobacter baumannii* aumentaram os resultados R para gentamicina (33%), imipenem(10%) e levofloxacino(10%). Em *S.aureus* houve diferença nas fluoroquinolonas com predomínio de resultados I. **Conclusão:** Com a implantação dos pontos de corte do BrCAST, a categorização I passou a ser mais frequente.

Palavras-chave

Antibiograma; CLSI; BrCAST-EUCAST; Pontos de corte clínicos; Disco-difusão.

INTRODUÇÃO

A utilização das orientações para interpretação do antibiograma da versão brasileira do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, (EUCAST), chamado *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST), passou a ser obrigatória a todos os laboratórios clínicos brasileiros a partir de

¹. Biomédica. Acadêmica de Pós-Graduação Lato Sensu em Microbiologia Clínica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul -Porto Alegre -RS, Brasil.

². Biomédica. Mestre em Ciências Médicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana (LABRESIS), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)-Porto Alegre- RS, Brasil.

³. Farmacêutico-Bioquímico. Doutor em Clinical Microbiology pela University of London. Coordenador do Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana (LABRESIS), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)-Porto Alegre- RS, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Porto Alegre-RS, Brasil.

Conflitos de interesse: não há conflito de interesse.

dezembro de 2019. ⁽¹⁾ Até então, a maioria dos laboratórios utilizava a padronização americana do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) para a realização e interpretação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos. O BrCAST tem por objetivo fornecer aos microbiologistas e clínicos uma solução permanente e atualizada para os testes de sensibilidade, disponibilizar documentos em português, e também padronizar, a nível nacional, as normas dos testes de sensibilidade, adaptando os conceitos do EUCAST à realidade dos laboratórios brasileiros. ⁽¹⁾

Existem diversas diferenças entre as padronizações do CLSI e do BrCAST. O CLSI apresenta as categorias sensível (S), intermediário (I), sensível dose-dependente (SDD) e resistente (R). ⁽²⁾ Por sua vez, o BrCAST possui as categorias sensível, dose padrão (S), sensível, aumentando a exposição (I) e resistente (R). ⁽³⁾ Também apresenta a área de incerteza técnica (AIT) em algumas combinações de antimicrobianos/microrganismos, inexistente no CLSI. ⁽⁴⁾ Os resultados dentro desta área são alertas ao laboratório e indicam que sua interpretação é duvidosa. ⁽⁴⁾ Outra diferença é definição dos resultados categorizados com a abreviatura I. No CLSI a categoria I (intermediário) é definida por pontos de corte que incluem isolados com Concentração Inibitória Mínima (CIM) ou diâmetros de halos de inibição dentro de um range, em que a abordagem terapêutica antimicrobiana usualmente atinge adequados níveis no sangue e tecidos e/ou quando as taxas de resposta podem ser mais baixas que em isolados sensíveis. ⁽²⁾ Também pode significar uma zona tampão para variações inerentes na técnica, para evitar que fatores técnicos menores e não controlados causem discrepâncias maiores nas interpretações, especialmente para drogas com estreita faixa de farmacotoxicidade. ⁽²⁾ Já no BrCAST um resultado I significa que o microrganismo é sensível, aumentando a exposição ao agente antimicrobiano, ou seja, há uma alta probabilidade de sucesso terapêutico porque a exposição foi aumentada ajustando-se o regime de dosagem ou sua concentração no local de infecção. ⁽⁵⁾ Este aumento de exposição depende de vários fatores como: a via de administração, a dose, o intervalo entre as doses e o tempo de infusão, assim como a distribuição, o metabolismo e a excreção do antimicrobiano, irão influenciar o microrganismo infectante no local da infecção. ⁽⁵⁾ Outra diferença observada na versão válida a partir de 20/05/2020 do BrCAST (documento baseado nos pontos de corte da versão 10.0, 2020 do EUCAST) é a apresentação de pontos de corte arbitrários “fora de escala” (CIM Sensível [S] $\leq 0,001$ mg/L ou diâmetro de halo $S \geq 50$ mm) que categorizam microrganismos do tipo selvagem como Sensível, aumentando a exposição (I), nunca como Sensível, dose padrão (S) a determinados agentes antimicrobianos. ⁽³⁾

Os pontos de corte para disco-difusão e CIM também apresentam diferenças quando comparadas as duas padronizações. Algumas espécies possuem pontos de corte clínicos apenas no CLSI, enquanto outras possuem apenas no BrCAST-EUCAST. Para o complexo *Burkholderia cepacia*, o CLSI apresenta padronização para alguns agentes antimicrobianos, já no BrCAST-EUCAST não há pontos de corte devido a dificuldades técnicas encontradas nos testes de suscetibilidade com essas espécies e ausência de correlações clínicas convincentes. ^(2,3) *Stenotrophomonas maltophilia* possui padronização para sulfametoxazol-trimetropim, levofloxacino e ceftazidima pelo CLSI; pelo BrCAST-EUCAST, há pontos de corte somente para sulfametoxazol-trimetropim. ^(2,3) Os únicos agentes beta-lactâmicos com pontos de corte clínicos para *Acinetobacter* spp. no BrCAST são imipenem e meropenem, já no CLSI há padronização adicional para ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam, ceftriaxona, ceftazidima e cefepima. ^(2,3) Outra importante diferença é que, pelo BrCAST, há padronização para todas as espécies de *Pseudomonas* spp., enquanto no CLSI os pontos de corte são somente para a espécie *P. aeruginosa*. ^(2,3) Para muitos microrganismos que não apresentam pontos de corte clínicos nos documentos do BrCAST, existem tabelas que permitem orientar a conduta clínica através da interpretação baseada em pontos de corte de PK-PD e dosagens, desde que seja conhecida a CIM do agente antimicrobiano para o microrganismo em questão. ⁽³⁾ Se a CIM for menor ou igual ao ponto de corte de PK-PD, é possível sugerir que o agente possa ser usado com cautela, e se a CIM for maior que o ponto de corte por PK-PD o uso do agente vai ser desencorajado. ⁽⁶⁾ Quando não existem pontos de corte clínicos, nem pontos de corte baseados em PK-PD, o BrCAST-EUCAST ainda apresenta as tabelas de distribuição das CIM e pontos de corte epidemiológicos (ECOFF), que permitem categorizar o microrganismo do tipo selvagem (sem mecanismos de resistência), ou seja, aqueles que não apresentam algum tipo de resistência adquirida ou mutacional. ⁽⁶⁾ Nestes dois últimos casos, o microbiologista não categoriza o antimicrobiano como S, R ou I, mas deve liberar no laudo que os pontos de corte clínicos ainda não foram determinados, e a suscetibilidade antimicrobiana foi investigada através de pontos de corte de PK-PD ou ECOFF, sendo o microrganismo em questão provavelmente tratável ou não tratável com o(s) agente(s) estudado(s). ⁽⁶⁾

Além disso, a nova padronização apresenta algumas diferenças técnicas, como as diferentes concentrações de alguns discos de antimicrobianos utilizados no antibiograma, novo meio de cultura para

realização dos testes de sensibilidade dos microrganismos fastidiosos (MH-F), redução dos limites aceitáveis para a temperatura das estufas e regimes de dosagem diferentes dos preconizados pelo CLSI. ⁽³⁾ As padronizações também apresentam diferentes pontos de corte para triagem de carbapenemases. Em ambas as padronizações, a detecção do mecanismo de resistência não é necessária para a categorização sensibilidade antimicrobiana, mas necessária para o serviço de controle de infecção e vigilância epidemiológica. ^(2,7)

Considerando que a mudança na padronização é uma nova realidade, realizamos um estudo comparativo entre o CLSI e BrCAST com objetivo de avaliar o impacto no perfil de suscetibilidade dos antibiogramas realizados no Laboratório do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, hospital público que atende diversas especialidades, referência em trauma para a região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados para este estudo isolados clínicos de *Enterobacterales*, *P. aeruginosa*, Complexo *Acinetobacter baumannii* e *Staphylococcus aureus* da rotina do laboratório do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, durante o período de Fevereiro a Agosto de 2020. Somente o primeiro isolado bacteriano de cada paciente, ou seja, isolado não duplicado, foi avaliado. A identificação microbiana foi realizada por técnicas manuais ou automação *Vitek Compact 2* (*Biomeriëux*, França). A técnica de antibiograma foi executada por disco-difusão (Kirby-Bauer) em ágar Müeller-Hinton (Laborclin, Brasil). Os inóculos foram preparados em escala MacFarland 0,5 com aferição em turbidímetro. Os discos com antibióticos (Cefar, Brasil e Oxoid, Reino Unido) foram aplicados nas placas de ágar Müeller-Hinton e incubados em estufa a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 ± 2 horas. Os halos de inibição de cada antimicrobiano foram medidos e categorizados como S, R ou I pelas duas padronizações, CLSI (versão M100-ED 30:2020) e BrCAST (versão 20/05/2020). Não foram incluídos nas análises estatísticas os antimicrobianos não padronizados para determinadas bactérias ou que apresentam resistência intrínseca. Também foi avaliada a existência de resultados que se enquadravam na área de incerteza técnica (AIT) pela nova padronização (BrCAST-EUCAST). Os resultados categorizados na AIT foram avaliados quanto à frequência. Realizou-se o Controle de Qualidade semanal, com cepas de referência de *Escherichia coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 e 29213. Considerando que as duas padronizações foram avaliadas em conjunto, o Controle de Qualidade dos antimicrobianos com as concentrações preconizadas pelo CLSI foram avaliados com suas respectivas cepas de referência (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923), e intervalos de referência conforme documento CLSI 2020 ⁽²⁾. Os resultados das categorizações (S, R e I) obtidos, aplicando a padronização do CLSI e BrCAST, foram avaliados através de estatística descritiva (frequência de cada categoria).

Em *Enterobacterales* foram estudados os antimicrobianos ampicilina, cefuroxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima, meropenem, imipenem, ertapenem, piperacilina-tazobactam, ampicilina-sulbactam, gentamicina, amicacina, ciprofloxacino, levofloxacino, sulfametoxazol-trimetropim, nitrofurantoína e norfloxacino (estes dois últimos somente em isolados urinários). Em *Pseudomonas aeruginosa* foram avaliados os antimicrobianos ceftazidima, cefepima, meropenem, imipenem, piperacilina-tazobactam, amicacina, ciprofloxacino e levofloxacino. Para o Complexo *Acinetobacter baumannii* foram estudados gentamicina e os mesmos antimicrobianos testados para *Pseudomonas aeruginosa*, com exceção da ceftazidima, cefepima e piperacilina-tazobactam. Para alguns antimicrobianos, discos com diferentes concentrações foram utilizados, de acordo com a recomendação de cada padronização: ceftazidima com 10 µg (BrCAST) e 30 µg (CLSI), piperacilina-tazobactam com 30-6 µg (BrCAST) e 100-10 µg (CLSI) e nitrofurantoína com 100 µg (BrCAST) e 300 µg (CLSI). Cada halo foi medido e avaliado conforme a padronização correspondente. Em *Staphylococcus aureus* foram estudados os antibióticos eritromicina, clindamicina, sulfametoxazol-trimetropim, gentamicina, rifampicina, ciprofloxacino e levofloxacino. A Tabela 1 apresenta os pontos de corte clínicos para disco-difusão, conforme cada padronização. Este estudo não recebeu suporte financeiro, visto se tratar de observação dos isolados da rotina laboratorial. Não houve necessidade de aprovação em comitê de ética por não se tratar de estudo com animais, também não foram acessados dados pessoais dos pacientes.

RESULTADOS

Foram avaliados um total de 157 isolados bacterianos, sendo 101 *Enterobacterales* (40 *Escherichia coli*, 22 *Klebsiella pneumoniae*, 13 *Proteus mirabilis*, 7 Complexo *Enterobacter cloacae*, 6 *Klebsiella aerogenes*, 6 *Serratia marcescens*, 3 *Morganella morganii*, 2 *Citrobacter koseri* e 2 *Proteus vulgaris*), 19 *Pseudomonas aeruginosa*, 10 Complexo *Acinetobacter baumannii* e 27 *Staphylococcus aureus*. Houve diferença na

categorização de um ou mais antimicrobianos, comparando as padronizações do CLSI 2020 e BrCAST versão 20/05/2020, para 30% dos isolados de *Enterobacterales* (Tabela 2), 100% de *Pseudomonas aeruginosa* (Tabela 3), 60% do Complexo *Acinetobacter baumannii* (Tabela 4) e 100% de *Staphylococcus aureus* (Tabela 5).

Enterobacterales

Embora exista uma menor frequência da categoria I no BrCAST quando avaliados os pontos de corte clínicos (ver tabela 1), constatamos que esta categorização foi mais frequente quando aplicada esta padronização. Em *Enterobacterales*, a categoria I apresentou diferenças em: cefuroxima parenteral (aumentou 84%), imipenem (aumentou 10%) e levofloxacino (aumentou 3%). Contudo, para imipenem esta diferença só esteve presente nos microrganismos *Morganella morgannii* e *Proteus* spp. Outra diferença comparando as duas padronizações foi para o antimicrobiano ampicilina-sulbactam, pela padronização do CLSI havia 12% de resultados categorizados como I. Aplicando a padronização do BrCAST estes resultados foram categorizados em S (5%) e R (7%). Similarmente, ocorre com os antimicrobianos ertapenem e cefepima. O ertapenem apresentou diferença de 3% em resultados resistentes pelo BrCAST, tendo sido categorizados como I (diferença de 2%) e S (diferença de 1%) pelo CLSI. Já a cefepima apresentou como diferença a redução de resultados S (2%) e I (1%) aplicando o BrCAST e, portanto, aumento de resistentes (3%). Com o antibiótico ciprofloxacino também houve diferenças. Pelo CLSI houve redução em 7% de resultados I, que, pelo BrCAST, foram categorizados como S (6%) e R (1%); houve frequência de AIT em 3% dos isolados para este antimicrobiano. Verificou-se também um aumento de resultados S nos antimicrobianos cefuroxima oral (aumentou 18%) e ampicilina (aumentou 4%).

A respeito dos discos com concentrações diferentes entre o CLSI e o BrCAST, os três apresentaram diferenças: piperacilina-tazobactam, nitrofurantoína e ceftazidima. A piperacilina-tazobactam apresentou 2% de resultados categorizados na AIT e aumento de resultados resistentes (aumentou 2%). Aumentou a resistência para ceftazidima (2%). Verificamos que a nitrofurantoína apresentou diferença em 4% dos isolados de *Escherichia coli*, tendo ocorrido a mudança de categoria de I para S.

Pseudomonas aeruginosa

O maior impacto no perfil de suscetibilidade encontrado neste estudo foi observado em *Pseudomonas aeruginosa*, sendo observada a diferença na categorização, para pelo menos um antimicrobiano, em 100% dos isolados (n=19). Observou-se que os resultados categorizados como I predominaram utilizando a padronização do BrCAST para os antibióticos ceftazidima, cefepima, imipenem, ciprofloxacino, levofloxacino e piperacilina-tazobactam (Tabela 3). Nenhum destes antimicrobianos foi categorizado como sensível dose padrão (S). A categoria resistente também foi mais frequente aplicando as normas do BrCAST: piperacilina-tazobactam, ciprofloxacino, levofloxacino, ceftazidima, cefepima e imipenem (Tabela 3). O antimicrobiano meropenem manteve mesmo percentual de resultados sensíveis, tendo-se observado a diferença em uma amostra (5%) categorizada como I no CLSI e R pelo BrCAST.

***Acinetobacter* spp.**

Observou-se a diferença na categorização em 60% dos isolados estudados (n=10). Os antimicrobianos meropenem, amicacina e sulfametoxazol-trimetropim não apresentaram diferença na categorização dos resultados quando comparadas as duas padronizações. Alguns antimicrobianos apresentaram mais resultados resistentes aplicando a padronização do BrCAST: gentamicina, imipenem e levofloxacino (Tabela 4). A categoria I foi observada em 20% dos isolados para o antibiótico ciprofloxacino, aplicando a padronização do BrCAST, mas não foi observada na padronização do CLSI. Quando comparadas as duas metodologias, verificou-se que estas amostras haviam sido categorizadas como sensíveis pelo CLSI.

Staphylococcus aureus

Foram analisados 27 isolados de *Staphylococcus aureus*, tendo ocorrido diferença na categorização em 100% dos isolados bacterianos para pelo menos um antimicrobiano. Não houve diferenças nos resultados de clindamicina, sulfametoxazol-trimetropim, gentamicina e rifampicina. As diferenças foram observadas em ciprofloxacino e levofloxacino (Tabela 5). Constatou-se, portanto, uma maior frequência de resultados I com o BrCAST. Com o antibiótico eritromicina aumentou o percentual de resultados resistentes (4%).

DISCUSSÃO

Existem muitas mudanças nos pontos de corte clínicos da versão do EUCAST- BrCAST de 2020. Como resultado, algumas espécies e agentes antimicrobianos nunca são categorizados como sensível dose padrão (S), apenas como sensível aumentando a exposição (I). Para exemplificar, a versão do BrCAST válida a partir de 04/10/19 (anterior), apresentava pontos de corte para sensível dose padrão para piperacilina-tazobactam (halo \geq 18 mm), contra *Pseudomonas aeruginosa* sendo que resultados entre 18 e 19 mm deveriam ser confirmados pois faziam parte da AIT. Isso demonstra uma significativa mudança, sendo imposta a necessidade de adequação na leitura dos pontos de corte e interpretação. Além disso, as alterações na categoria I têm maior impacto em nível clínico e técnico, e afetaram a vigilância epidemiológica da resistência antimicrobiana, pois um resultado categorizado como I pelo BrCAST é considerado como sensível, aumentando a exposição, enquanto que no CLSI um resultado I (intermediário) pode refletir um grau de incerteza quanto a eficácia do tratamento. ⁽⁵⁾

No presente estudo foi avaliada a existência de resultados que se enquadravam na área de incerteza técnica (AIT) pela nova padronização (BrCAST-EUCAST). Considerando que a AIT é um alerta ao laboratório de que o diâmetro de halo obtido na técnica de disco-difusão apresenta incerteza, na prática a AIT não deve ser relatada, devendo o analista realizar testes alternativos ou a repetição da técnica, sendo possível também não relatar o resultado no laudo final. ⁽⁴⁾ Sendo assim, neste estudo, havendo outras opções terapêuticas, os resultados incluídos na AIT não foram confirmados. Verificou-se que os antimicrobianos ciprofloxacino e piperacilina-tazobactam apresentaram alguns resultados nesta área de incerteza. No CLSI há uma zona tampão para problemas técnicos que está incluído em resultados categorizados como I. Já no BrCAST foi criada a AIT justamente para evitar que resultados com erros sejam liberados. ⁽⁸⁾ Uma alternativa para a correta categorização desses resultados seria a realização da CIM. Recentemente, o EUCAST realizou uma consulta pública internacional sobre uma proposta de mudança para piperacilina-tazobactam, pois estudos de PK-PD e estudos clínicos sugerem que os atuais pontos de corte para R em *Enterobacterales* são muito altos na versão EUCAST 10.0 e estão associados com problemas no teste. ⁽⁹⁾ Em nosso estudo, constatamos que 2% de nossos resultados possivelmente apresentariam problemas técnicos (AIT) aplicando os pontos de corte da versão atual do BrCAST-EUCAST. Também verificamos um aumento nos resultados resistentes para piperacilina-tazobactam (diferença de 17%), embora os pontos de corte não difiram muito do CLSI, o disco apresenta menor concentração pela técnica do BrCAST. Para avaliar possíveis discrepâncias, poderia ser determinada a CIM como método de referência.

Em relação às *Enterobacterales*, o aumento em resultados de imipenem categorizados como I pelo BrCAST nos microrganismos *Morganella morganii* e *Proteus* spp. pode ser justificado por esta padronização apresentar pontos de corte específicos para estes gêneros, com diâmetro de halo de inibição em um range arbitrário para resultado S – sensível dose padrão (\geq 50 mm). Em cefuroxima parenteral também foram utilizados pontos de corte arbitrários, de forma que aqueles resultados não categorizados como resistentes são categorizados como I – sensível aumentando a exposição. Outra diferença foi observada com a ampicilina-sulbactam: resultados categorizados como I pelo CLSI (12%), halos entre 12 a 14 mm, aplicando a padronização do BrCAST foram categorizados em S, diâmetro de halo \geq 14 mm (5%) e R, diâmetro de halo \leq 13 mm (7%). Neste caso, os pontos de corte são muito próximos quando comparadas as duas padronizações. O disco de nitrofurantoína apresenta menor concentração na padronização do BrCAST, menores intervalos nos pontos de corte e apresentou aumento nos resultados sensíveis para *E.coli* (CLSI 96%, BrCAST 100%).

No que diz respeito a *P. aeruginosa* para os antibióticos ceftazidima, cefepima, imipenem, ciprofloxacino, levofloxacino e piperacilina-tazobactam predominaram os resultados categorizados como I. Estes resultados impõem a utilização de protocolos de doses com maior exposição ao agente antimicrobiano, e não utilizada a dose padrão. Resultados similares foram obtidos com *S. aureus* e as fluoroquinolonas.

Os regimes de dosagem recomendados pelo BrCAST diferem do documento do CLSI, mas em muitos casos podem ser iguais. Um exemplo é a dose recomendada para *P. aeruginosa* categorizada como sensível, aumentando a exposição (I) para o antibiótico ceftazidima pelo BrCAST, que é a mesma para resultado sensível pelo CLSI (2g x 3 iv ou 1g x 6 iv). ^(2,3) No entanto, o documento do BrCAST alerta caso os regimes de dosagem utilizados difiram significativamente do recomendado pela padronização europeia, pois os pontos de corte utilizados na categorização dos microrganismos podem não ser válidos. ⁽³⁾

Existem alguns estudos realizados em instituições onde ocorreu similar mudança da padronização americana para a europeia. Também se avaliou o impacto no perfil de sensibilidade com a mudança da padronização, sendo encontrados diferentes resultados. Sánchez-Bautista e colaboradores mencionam em seu

trabalho o impacto no perfil de sensibilidade bacteriana pela mudança da padronização do CLSI para o EUCAST no Hospital General Universitario de Alicante (Espanha).⁽¹⁰⁾ Foram avaliados os padrões de sensibilidade de 10.359 isolados clínicos incluindo *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, utilizando ambas padronizações. A técnica utilizada foi CIM pelo método de microdiluição (MicroScan WalkAway 96 Plus, Siemens). Em seus resultados, os autores observaram que houve uma significativa redução na sensibilidade aos aminoglicosídeos (gentamicina e ampicilina) tanto em *Enterobacterales*, quanto em *P. aeruginosa*.⁽¹⁰⁾ Entretanto, a grande maioria dos isolados não se tornou completamente resistente aos aminoglicosídeos, uma vez que a porcentagem de resistência à ampicilina aumentou menos: 0,4% para *Escherichia coli*, 1,6% para *K. pneumoniae*, e 5,7% para *P. aeruginosa*. O percentual de cepas sensíveis a fluoroquinolonas em enterobactérias mostrou pouca variação, mas em *P. aeruginosa* a padronização do EUCAST reduziu significativamente a sensibilidade a estes antimicrobianos (8,2%). Em *Staphylococcus aureus* foi observada a diminuição na sensibilidade à gentamicina (43,1%) e clindamicina (51,5%).⁽¹⁰⁾ Em nosso estudo, não verificamos diferenças no perfil de sensibilidade dos aminoglicosídeos gentamicina e ampicilina em *Enterobacterales*, porém em *Acinetobacter* spp. houve a redução da sensibilidade para gentamicina (33%). Em *P. aeruginosa* não foi possível comparar a sensibilidade de gentamicina, pois foram excluídos pontos de corte clínicos do BrCAST, já o CLSI manteve os pontos de corte para este antibiótico. Também não verificamos mudança no perfil de suscetibilidade de *S. aureus* à gentamicina e clindamicina. Porém, constatamos a mudança da categorização das fluoroquinolonas ciprofloxacino e levofloxacino em todos os isolados bacterianos categorizados como sensível pelo CLSI. Pela padronização do BrCAST, todos eles foram categorizados como I, sensível aumentando a exposição ao antimicrobiano.

Outro trabalho, realizado no Hospital Universitário de Zurique (Suíça), comparou as mudanças nos acumulados dos antibiogramas das cinco espécies bacterianas mais prevalentes em um período de dois anos.⁽¹¹⁾ O estudo foi realizado em dois períodos consecutivos, antes da mudança do CLSI para o EUCAST (período A – 2540 isolados) e após (período B – 2688 isolados). As espécies analisadas foram: *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. A técnica utilizada foi a de disco-difusão Kirby-Bauer em Ágar Mueller Hinton e a zona de inibição foi determinada pelo sistema automatizado Sirweb/Sirscan (i2a) de acordo com o CLSI 2009 e o EUCAST 1.3 (2011).⁽¹¹⁾ Certos antimicrobianos com concentrações diferentes entre o CLSI e o EUCAST não foram analisados (ceftazidima e piperacilina-tazobactam). A conclusão do estudo mostrou que a mudança da padronização levou a uma redução significativa na sensibilidade de *P. aeruginosa* ao meropenem (88,1% para 78,3%), tendo um impacto na escolha da terapia empírica em pacientes com infecções graves.⁽¹¹⁾ Assim como este estudo, não verificamos diferenças no perfil de sensibilidade ao meropenem em *Enterobacterales*, mas verificamos que para *P. aeruginosa* houve um aumento de resistência (de 11% para 16%), embora não houve mudança no perfil de resultados sensíveis (84%) aplicando o BrCAST, pois os resultados haviam sido categorizados como intermediário pelo CLSI.

Um estudo mais recente utilizando as padronizações do CLSI e EUCAST de 2018, demonstrou que os índices de resistência foram maiores para ciprofloxacino usando os pontos de corte do EUCAST versus CLSI para *E. coli* (59,1%, 46,5%), *Klebsiella pneumoniae* (37,5%, 13,9%) e *P. aeruginosa* (28,2%, 10,3%).⁽¹²⁾ Em nosso estudo, também verificamos que, em *P. aeruginosa*, os resultados resistentes a ciprofloxacino aumentaram 15%, mas em *Enterobacterales* houve aumento de 4% de resultados sensíveis.

Os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos estão entre os resultados mais importantes emitidos pelo setor de microbiologia, pois orientam rotineiramente decisões críticas de tratamento.⁽⁸⁾ Anteriormente à implantação do BrCAST-EUCAST, diante de um resultado categorizado como I, o clínico avaliaria outras opções de antimicrobianos como alternativa de tratamento (categorizados como S), caso estivessem disponíveis. No entanto, a partir da implantação dos pontos de corte do BrCAST, especialmente a versão válida a partir de 10/05/20, a categoria I passou a ser mais frequente, sendo imprescindível a correta interpretação dos resultados pelos clínicos. Para auxiliar no processo de atualização dos profissionais que interpretam os resultados, o microbiologista deve incluir nos laudos dos antibiogramas notas explicativas sobre a redefinição da interpretação dos resultados categorizados como I, a fim de orientar e tranquilizar o clínico sobre a nova interpretação. Existe uma tabela com as dosagens para cada antimicrobiano disponível no site do BrCAST que pode auxiliar neste processo. A padronização do BrCAST-EUCAST é atualizada com mais frequência em comparação com o CLSI (atualização anual). Portanto, a utilização da padronização BrCAST- EUCAST é mais vantajosa por apresentar respostas mais rápidas quando observada a necessidade de ajustes nos pontos de corte. No entanto, para os microbiologistas e clínicos, é um novo desafio considerando a necessidade de atualização constante e adequação aos novos pontos de corte.

CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou que houve uma significativa diferença na categorização dos microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacterales*, Complexo *Acinetobacter baumannii* e *Staphylococcus aureus*, especialmente na elevada frequência da categorização dos resultados como sensível, aumentando a exposição (I). Observou-se diferenças na categorização de alguns antimicrobianos com diferentes concentrações, mas seria necessária a realização de testes como CIM para avaliar corretamente a causa dessa diferença.

Abstract

Introduction: The application of BrCAST-EUCAST guidelines is a new reality and it presents differences regarding CLSI. **Objective:** The aim of this study was to assess the impact on the susceptibility profile according to the two standardizations on susceptibility testing in Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Methods:** The CLSI 2020 and BrCAST version 05/10/20 standards were applied to categorize the inhibition zone by disk-diffusion in bacterial isolates of *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* Complex and *Staphylococcus aureus*. **Results:** There were differences in categorization in at least one antimicrobial in all isolates of *P. aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, while for the *Acinetobacter baumannii* Complex and *Enterobacterales* isolates there was difference for at least one antimicrobial in 60% and 30% of isolates, respectively. Applying BrCAST, in *Enterobacterales*, category I increased in antibiotics parenteral cefuroxime (84%), imipenem (10%), levofloxacin (3%), increased susceptible (S) category in oral cefuroxime and ciprofloxacin (18% and 6% difference), ampicillin-sulbactam had no results categorized as I (12% difference). There were differences in disk with different concentrations of nitrofurantoin (category I to S in 4% of *E. coli* isolates) and piperacillin-tazobactam (category Resistant [R] increased by 3% and there were 2% of results in Area of Technical Uncertainty (AUT). The greatest impact on susceptibility profile was found in *P. aeruginosa*, with predominance of results I for ceftazidime (94%), cefepime (95%), imipenem (84%), piperacillin-tazobactam (83%), ciprofloxacin and levofloxacin (74%). In *Acinetobacter baumannii* Complex there was an increase in R results for gentamicin (33%), imipenem (10%) and levofloxacin (10%). *S. aureus* had differences in fluoroquinolones with predominance of I results. **Conclusions:** From the implementation of the breakpoints of BrCAST, a valid version from 05/10/20, I categorization became more frequent.

Keywords

Antibiogram; CLSI; BrCAST-EUCAST; Clinical Breakpoints; Disk-diffusion.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 64, de 11 de dezembro de 2018. Expede norma para interpretação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), tendo como base os documentos da versão brasileira do European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Diário Oficial da União. 11 Dez 2018; seção 1.; 2018 p. 59.
2. Wayne P. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. Informational Supplement. CLSI document M100-S30. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
3. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Versão 2.0; 2020.
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Area of technical uncertainty (ATU) in antimicrobial susceptibility testing; 2019; Disponível em: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Area_of_Technical_Uncertainty_-_guidance_2019-1.pdf
5. Kahlmeter G. Redefinição das categorias dos testes de sensibilidade S, I e R. In: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BRCAST) [Internet]. 2019. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrobial susceptibility tests on groups of organisms or agents for which there are no EUCAST breakpoints [Internet]. 2016 p. 2–3. Disponível em: <http://www.eucast.org>

7. Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade Antimicrobianos (BrCAST). Orientações do EUCAST para a detecção mecanismos de resistência e resistências específicas de importância clínica e/ou epidemiológica. Eur Committee Antimicrob Susceptibility Test Orientações do EUCAST para a detecção Mec Resist e Resist específicas importância clínica e/ou epidemiológica [Internet]. 2017;46. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>
8. Kahlmeter G, Giske CG, Kirn TJ, Sharp E. Point-Counterpoint : Differences between the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and Clinical and Laboratory Standards Institute recommendations for reporting antimicrobial susceptibility results. *J Clin Microbiology*. 2019;57(9):1–6.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Piperacillin-tazobactam breakpoints for Enterobacterales. General consultation. [Internet]. 2020. Disponível em: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Consultation/2020/Pip-Taz_Enterobacterales_General_consultation_final_20200710.pdf
10. Sánchez-Bautista A, Coy J, García-Shimizu P, Rodríguez JC. From CLSI to EUCAST guidelines in the interpretation of antimicrobial susceptibility: What is the effect in our setting? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018;36(4):229–32.
11. Wolfensberger A, Sax H, Weber R, Zbinden R, Kuster SP, Hombach M. Change of antibiotic susceptibility testing guidelines from CLSI to EUCAST: Influence on cumulative hospital antibiograms. *PLoS One*. 2013;
12. Cusack TP, Ashley EA, Ling CL, Rattanavong S, Roberts T, Turner P, et al. Impact of CLSI and EUCAST breakpoint discrepancies on reporting of antimicrobial susceptibility and AMR surveillance. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2019;25(7):910–1. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.007>

TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1. Pontos de corte clínicos CLSI 2020 e BrCAST versão 20/05/20 por disco-difusão(mm).

Microrganismo ou antimicrobiano	CLSI			BrCAST			AIT
	S	I	R	S	I	R	
Enterobacterales							
Ampicilina	≥ 17	14-16	≤ 13	≥ 14		≤ 13	
Ampicilina-Sulbactam	≥ 15	12-14	≤ 11	≥ 14		≤ 13	
Cefuroxima parenteral*	≥ 18	15-17	≤ 14	≥ 50	19-49	≤ 18	
Cefuroxima oral	≥ 23	15-22	≤ 14	≥ 19		≤ 18	
Ceftriaxona	≥ 23	20-22	≤ 19	≥ 25	22-24	≤ 21	
Cefepima	≥ 25	19-24	≤ 18	≥ 27	24-26	≤ 23	
Ceftazidima**	≥ 21	18-20	≤ 17	≥ 22	19-21	≤ 18	
Piperacilina-Tazobactam***	≥ 21	18-20	≤ 17	≥ 20	17-19	≤ 16	17-19
Meropenem	≥ 23	20-22	≤ 19	≥ 22	16-21	≤ 15	
Ertapenem	≥ 22	19-21	≤ 18	≥ 25		≤ 24	
Imipenem	≥ 23	20-22	≤ 19	≥ 22	17-21	≤ 16	
Imipenem <i>Morganella, Proteus e Providencia</i>	≥ 23	20-22	≤ 19	≥ 50	17-49	≤ 16	
Gentamicina	≥ 15	13-14	≤ 12	≥ 17		≤ 16	
Amicacina	≥ 17	15-16	≤ 14	≥ 18		≤ 17	
Ciprofloxacino	≥ 26	22-25	≤ 21	≥ 25	22-24	≤ 21	22-24
Levofloxacino	≥ 21	17-20	≤ 16	≥ 23	19-22	≤ 18	
Sulfametoxazol-Trimetropim	≥ 16	11-15	≤ 10	≥ 14	11-13	≤ 10	
Nitrofurantóina ****	≥ 17	15-16	≤ 14	≥ 11		≤ 10	
Norfloxacino	≥ 17	13-16	≤ 12	≥ 22		≤ 21	
Pseudomonas aeruginosa							
Ceftazidima**	≥ 18	15-17	≤ 14	≥ 50	17-49	≤ 16	
Cefepima	≥ 18	15-17	≤ 14	≥ 50	21-49	≤ 20	
Piperacilina-Tazobactam***	≥ 21	15-20	≤ 14	≥ 50	20-49	≤ 17	18-19
Meropenem	≥ 19	16-18	≤ 15	≥ 24	18-23	≤ 17	
Imipenem	≥ 19	16-18	≤ 15	≥ 50	20-49	≤ 19	
Amicacina	≥ 17	15-16	≤ 14	≥ 15		≤ 14	
Ciprofloxacino	≥ 25	19-24	≤ 18	≥ 50	26-49	≤ 25	
Levofloxacino	≥ 22	15-21	≤ 14	≥ 50	22-49	≤ 21	
Acinetobacter spp.							
Meropenem	≥ 18	15-17	≤ 14	≥ 21	15-20	≤ 14	
Imipenem	≥ 22	19-21	≤ 18	≥ 24	21-23	≤ 20	
Gentamicina	≥ 15	13-14	≤ 12	≥ 17		≤ 16	
Amicacina	≥ 17	15-16	≤ 14	≥ 19		≤ 18	
Ciprofloxacino	≥ 21	16-20	≤ 15	≥ 50	21-49	≤ 20	
Levofloxacino	≥ 17	14-16	≤ 13	≥ 23	20-22	≤ 19	
Sulfametoxazol-Trimetropim	≥ 16	11-15	≤ 10	≥ 14	11-13	≤ 10	
Staphylococcus aureus							
Eritromicina	≥ 23	14-22	≤ 13	≥ 21	18-20	≤ 17	
Clindamicina	≥ 21	15-20	≤ 14	≥ 22	19-21	≤ 18	
Sulfametoxazol-Trimetropim	≥ 16	11-15	≤ 10	≥ 17	14.-16	≤ 13	
Gentamicina	≥ 15	13-14	≤ 12	≥ 18		≤ 17	
Rifampicina	≥ 20	17-19	≤ 16	≥ 26	23-25	≤ 22	
Ciprofloxacino	≥ 21	16-20	≤ 15	≥ 50	21-49	≤ 20	
Levofloxacino	≥ 19	16-18	≤ 15	≥ 50	22-49	≤ 21	

* *E.coli*, *Klebsiella* (exceto *aerogenes*), *Raoutella* e *P.mirabilis*. ** ceftazidima: CLSI 30 µg, BrCAST 10 µg. *** piperacilina-tazobactam: CLSI 100-10 µg, BrCAST 30-6 µg. ****nitrofurantóina: CLSI 300 µg, BrCAST 100 µg (grupo urinário apenas para *E. coli*). AIT- Área de Incerteza Técnica.

Tabela 2 - Percentual de categorização das *Enterobacteriales*, frequência de resultados na Área de Incerteza Técnica (AIT) e diferença aplicando a padronização do BrCAST.

	CLSI (%)			BRCAST (%)				Diferença (%)		
	S	R	I	S	R	I	AIT	S	R	I
Ampicilina	45	51	4	49	51	0	0	4	0	<u>4</u>
Ampicilina-Sulbactam	68	20	12	73	27	0	0	5	7	<u>12</u>
Cefuroxima parenteral ^α	86	14	0	0	16	84	0	<u>86</u>	2	84
Cefuroxima oral	66	14	20	84	16	0	0	18	2	<u>20</u>
Ceftriaxona	86	14	0	85	14	1	0	<u>1</u>	0	1
Cefepima	89	8	3	87	11	2	0	<u>2</u>	3	<u>1</u>
Ceftazidima*	86	12	2	85	14	1	0	<u>1</u>	2	<u>1</u>
Piperacilina-Tazobactam**	91	8	1	90	10	0	2	<u>1</u>	2	<u>1</u>
Meropenem	93	7	0	93	7	0	0	0	0	0
Ertapenem	91	7	2	90	10	0	0	<u>1</u>	3	<u>2</u>
Imipenem	88	7	5	78	7	15	0	<u>10</u>	0	10
Gentamicina	94	6	0	94	6	0	0	0	0	0
Amicacina	99	1	0	99	1	0	0	0	0	0
Ciprofloxacino	73	20	7	79	21	0	3	6	1	<u>7</u>
Levofloxacino	80	20	0	77	20	3	0	<u>3</u>	0	3
Sulfametoxazol-Trimetropim	74	26	0	74	26	0	0	0	0	0
Nitrofurantoina ***	96	0	4	100	0	0	0	4	0	<u>4</u>
Norfloxacino	64	36	0	64	36	0	0	0	0	0

Concentrações dos discos: *ceftazidima CLSI 30 µg, BrCAST 10 µg. ** piperacilina-tazobactam CLSI 100-10 µg, BrCAST 30-6 µg. ***nitrofurantoina CLSI 300 µg, BrCAST 100 µg. Resultados em vermelho e sublinhado indicam redução no percentual.

Tabela 3 - Percentual de categorização de *Pseudomonas aeruginosa*, frequência de resultados na área de incerteza técnica (AIT) e diferença aplicando o BrCAST.

	CLSI (%)			BRCAST (%)				Diferença (%)		
	S	R	I	S	R	I	AIT	S	R	I
Cefepima	100	0	0	0	5	95	0	<u>100</u>	5	95
Ceftazidima*	100	0	0	0	6	94	0	<u>100</u>	6	94
Piperacilina-Tazobactam**	95	0	5	0	17	83	5	<u>95</u>	17	<u>78</u>
Meropenem	84	11	5	84	16	0	0	0	5	<u>5</u>
Imipenem	89	11	0	0	16	84	0	<u>89</u>	5	84
Amicacina	95	0	5	100	0	0	0	5	0	<u>5</u>
Ciprofloxacino	84	11	5	0	26	74	0	<u>84</u>	15	69
Levofloxacino	68	11	21	0	26	74	0	<u>68</u>	15	53

Concentrações dos discos: * ceftazidima CLSI 30 µg, BrCAST 10 µg. ** piperacilina-tazobactam CLSI 100-10 µg, BrCAST 30-6 µg. Resultados em vermelho e sublinhado indicam redução no percentual.

Tabela 4 - Percentual de categorização de *Acinetobacter* spp., frequência de resultados na área de incerteza técnica (AIT) e diferença aplicando o BrCAST.

	CLSI (%)			BRCAST (%)				Diferença (%)		
	S	R	I	S	R	I	AIT	S	R	I
Meropenem	20	70	10	20	70	10	0	0	0	0
Imipenem	20	70	10	20	80	0	0	0	10	<u>10</u>
Gentamicina	89	11	0	56	44	0	0	<u>33</u>	33	0
Amicacina	30	70	0	30	70	0	0	0	0	0
Ciprofloxacino	20	80	0	0	80	20	0	<u>20</u>	0	20
Levofloxacino	20	70	10	20	80	0	0	0	10	<u>10</u>
Sulfametoxazol-Trimetropim	20	60	20	20	60	20	0	0	0	0

Resultados em vermelho e sublinhado indicam redução no percentual.

Tabela 5 - Percentual de categorização de *Staphylococcus aureus*, frequência de resultados na área de incerteza técnica (AIT) e diferença aplicando o BrCAST

	CLSI (%)			BRCAST (%)				Diferença (%)		
	S	R	I	S	R	I	AIT	S	R	I
Eritromicina	56	41	4	56	44	0	0	0	4	<u>4</u>
Clindamicina	63	37	0	63	37	0	0	0	0	0
Sulfametoxazol-trimetropim	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0
Gentamicina	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0
Rifampicina	96	4	0	96	4	0	0	0	0	0
Ciprofloxacino	96	4	0	0	0	100	0	<u>96</u>	<u>4</u>	100
Levofloxacino	95	5	0	0	0	100	0	<u>95</u>	<u>5</u>	100

Resultados em vermelho e sublinhado indicam redução no percentual.

3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Este estudo demonstrou que houve uma significativa diferença na categorização dos microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacterales*, Complexo *Acinetobacter baumannii* e *Staphylococcus aureus*, especialmente na elevada frequência da categorização dos resultados como sensível, aumentando a exposição (I) nos antibiogramas realizados no Laboratório do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre com adesão à padronização através do BrCAST-EUCAST. Observou-se diferenças na categorização utilizando alguns antimicrobianos com diferentes concentrações, mas seria necessária a realização de testes como CIM para avaliar corretamente a causa dessa diferença.

Anteriormente à implantação do BrCAST-EUCAST, diante de um resultado categorizado como I, o clínico avaliaria outras opções de antimicrobianos como alternativa de tratamento (categorizados como S), caso estivessem disponíveis. Conforme exposto neste trabalho, a partir da implantação dos pontos de corte do BrCAST da versão válida a partir de 10/05/20, a categoria I passou a ser mais frequente, sendo necessárias muitas mudanças em nossa rotina para adequação, como a inclusão de notas explicativas nos laudos de forma a orientar o médico sobre a nova interpretação, especialmente se tratando do antibiótico piperacilina-tazobactam, que é muito utilizada em nossa instituição para o tratamento de infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacterales*. Também houve a necessidade da alteração no *layout* dos antibiogramas, com a substituição das legendas para a abreviatura I (anteriormente Intermediário, agora Sensível, aumentando a exposição).

A padronização do BrCAST-EUCAST é atualizada com mais frequência em comparação com o CLSI (atualização anual). Portanto, a utilização desta metodologia é mais vantajosa por apresentar respostas mais rápidas quando observada a necessidade de ajustes nos pontos de corte. No entanto, para os microbiologistas e clínicos, é um novo desafio considerando a necessidade de atualização constante e adequação aos novos pontos de corte.

Este artigo, escrito com base nos resultados de nossa pesquisa, será divulgado junto ao corpo clínico e equipe da CCIH do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, e servirá como fonte de atualização aos leitores, permitindo discussões sobre o assunto nas reuniões da instituição.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Portaria n° 64, de 11 de dezembro. Brasil.; 2018 p. 59.
2. Wayne P. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. 2020;
3. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - BrCAST. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Versão 2.0. 2020;
4. Kahlmeter G. Redefinição das categorias dos testes de sensibilidade S , I e R . Brazilian Committee Antimicrob Susceptibility Test. 2019;
5. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Area of Technical Uncertainty (ATU) in antimicrobial susceptibility testing. 2019; Available from: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Area_of_Technical_Uncertainty_-_guidance_2019-1.pdf
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility tests on groups of organisms or agents for which there are no EUCAST breakpoints. 2016;(May):2–3.
7. Sánchez-Bautista A, Coy J, García-Shimizu P, Rodríguez JC. From CLSI to EUCAST guidelines in the interpretation of antimicrobial susceptibility: What is the effect in our setting? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018;36(4):229–32.
8. Wolfensberger A, Sax H, Weber R, Zbinden R, Kuster SP, Hombach M. Change of antibiotic susceptibility testing guidelines from CLSI to EUCAST: Influence on cumulative hospital antibiograms. *PLoS One*. 2013;

APÊNDICE A – FORMULÁRIOS PARA COLETA DE DADOS

Enterobacteriales

NºBAC/Nº TCC			
Amostra/ Microrganismo:			
Padronização	Halo medido	CLSI	BRCAS
Ampicilina 10			
Amp-Sulb 10-10			
Cefuroxima 30			
Ceftriaxona 30			
Cefepima 30			
Ceftazidima 10		-	
Ceftazidima 30			-
Pipe-Tazo 30-6		-	
Pipe-Tazo 110-10			-
Meropenem 10			
Ertapenem 10			
Imipenem 10			
Gentamicina 10			
Amicacina 30			
Ciprofloxacino 5			
Levofloxacino 5			
Sulfa-Tri 23,75-1,25			
Nitrofurantoína 100		-	
Nitrofurantoína 300			-
Norfloxacino 10			
Há diferenças?			

Pseudomonas aeruginosa

NºBAC/Nº TCC			
Amostra/ Microrganismo:			
Padronização	Halo medido	CLSI	BRCAS
Ceftazidima 10		-	
Ceftazidima 30			-
Cefepima 30			
Pipe-Tazo 30-6		-	
Pipe-Tazo 100-10			-
Meropenem 10			
Imipenem 10			
Gentamicina 10			
Amicacina 30			
Ciprofloxacino 5			
Levofloxacino 5			
Há diferenças?			

Acinetobacter spp.

N°BAC/N° TCC			
Amostra/ Microrganismo:			
Padronização	Halo medido	CLSI	BRCAS
Meropenem 10			
Imipenem 10			
Gentamicina 10			
Amicacina 30			
Ciprofloxacino 5			
Levofloxacino 5			
Sulfa-Tri 23,75-1,25			
Há diferenças?			

Staphylococcus aureus

N°BAC/N° TCC			
Amostra/ Microrganismo:			
Padronização	Halo medido	CLSI	BRCAS
Eritromicina			
Clindamicina 2			
Sulfa-tri 23,75-1,25			
Gentamicina 10			
Rifampicina 5			
Ciprofloxacino 5			
Levofloxacino 5			
Há diferenças?			

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Brazilian Journal of Clinical Analyses

ISSN 2448-3877 – Versão Online

ISSN 0370-369-x – Versão Impressa

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A Revista Brasileira de Análises Clínicas [RBAC], criada em 1969, é o órgão oficial de divulgação científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas [SBAC]. A RBAC tem circulação trimestral e seus artigos estão indexados no LILACS [Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde].

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC] é publicada em português e inglês e é dedicada à divulgação de pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida, relacionada às várias áreas das análises clínicas e da patologia clínica veterinária.

Ao submeter o original do manuscrito, os autores assumem a responsabilidade do manuscrito não ter sido previamente publicado e nem estar sendo simultaneamente analisado por outro periódico, quer na íntegra ou parcialmente, excetuando-se resumos ou relatórios preliminares publicados em anais de reuniões científicas. Todos os autores deverão assinar e encaminhar a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais, assumindo formalmente a autoria pelo manuscrito e oficializando a cessão do copyright. A declaração assinada deverá ser remetida sob a forma de documento em ".pdf". As opiniões, asserções e conclusões emitidas nos manuscritos, bem como a veracidade das informações e citações bibliográficas são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Os autores deverão declarar no manuscrito qualquer potencial conflito de interesse, incluindo aqueles de natureza política e financeira. O documento formal de conflito de interesse é a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais mencionada acima.

Os autores deverão declarar todas as fontes de financiamento ou suporte público ou privado recebidas para a realização do estudo. No caso de estudos realizados sem recursos financeiros, da mesma forma, os autores deverão declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

Quando a investigação envolver seres humanos, a publicação do manuscrito estará condicionada ao cumprimento irrestrito das diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde [CNS] e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa [CONEP]. A declaração de que os procedimentos seguidos nos experimentos estão em consonância com os princípios éticos aceitos pelas normativas nacional (Resolução CNS 466/2012) e internacional (Declaração de Helsinki/ World Medical Association) deverá ser explicitamente firmada no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética em Pesquisa [CEP] da instituição responsável pela investigação deverá ser também a declarado. Uma cópia em ".pdf" da autorização do CEP deverá ser encaminhada juntamente com o manuscrito. Quando se tratar de pesquisa com animais, as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal [CONCEA] e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal [COBEA], bem como do Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Institute for Laboratory Animal Research/ National Academy of Science - USA] deverão ser incondicionalmente respeitadas e seu cumprimento também deverá ser declarado, explicitamente, no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais [CEUA] da instituição responsável pela pesquisa deverá ser igualmente declarado e uma cópia em ".pdf" da autorização do CEUA deverá ser, da mesma forma, encaminhada com o manuscrito. Quando os autores forem filiados a instituições não brasileiras, estes deverão declarar no manuscrito o cumprimento de diretrizes normativas e remeter documentação local de mesmo efeito legal.

A Revista Brasileira de Análises Clínicas apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde [OMS], do International Committee of Medical Journal Editor [ICMJE] e do

Workshop ICTRP. Desse modo, somente serão aceitos para publicação os artigos de ensaios clínicos laboratoriais que tenham recebido um número de identificação em um dos registros de ensaios clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE. Entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são: Australian New Zealand Clinical Trials Registry [ANZCTR], International Standard Randomised Controlled Trial Number [SRCTN], Netherlands Trial Register [NTR], UMIN Clinical Trials Registry [UMIN-CTR], WHO International Clinical Trials Registry Platform [ICTRP]. No entanto, o número de identificação obtido no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos – ReBEC (<http://www.ensaioclinicos.gov.br>) do Ministério da Saúde [DECIT/MS], Organização Panamericana de Saúde [OPAS] e Fundação Oswaldo Cruz [Fiocruz] é igualmente aceito pela RBAC. O número de identificação/ identificador primário deverá ser declarado ao final da seção Material e Métodos.

Apenas serão recebidos manuscritos que estejam rigorosamente de acordo com as normas aqui especificadas. Os manuscritos serão avaliados por pareceristas/ revisores indicados pelo Conselho Editorial e/ou, eventualmente, pelos autores. Quando indicados pelos autores, deverá ser informado nome completo dos pareceristas/ revisores, e-mail e instituição de origem. O Conselho Editorial se reserva o direito, no entanto, de acatar ou não a sugestão de pareceristas/ revisores por parte dos autores. A aceitação dos manuscritos será feita em função da originalidade, importância e contribuição científica para o desenvolvimento da área. Manuscritos aprovados poderão sofrer alterações de ordem editorial, desde que não alterem o mérito do trabalho. Manuscritos recusados pelos pareceristas/ revisores serão informados imediatamente aos autores.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* está estruturada em 15 seções ou áreas temáticas, cuja indicação deverá ser feita pelos autores, no momento da submissão do manuscrito, sendo elas:

1. Bacteriologia Clínica
2. Virologia Clínica
3. Micologia Clínica
4. Parasitologia Clínica
5. Imunologia Clínica
6. Bioquímica Clínica e Biologia Molecular
7. Hematologia Clínica e Imunohematologia
8. Citologia Clínica e Anatomia Patológica
9. Boas Práticas de Laboratório Clínico e Biossegurança
10. Gestão e Controle da Qualidade no Laboratório Clínico
11. Bioética e Ética em Pesquisa
12. História da Saúde e Ensino das Análises Clínicas
13. Microbiologia de Alimentos
14. Patologia Clínica Veterinária/ Medicina Veterinária Laboratorial
15. Toxicologia Clínica e Biologia Forense

Os manuscritos poderão ser submetidos dentro das categoriais de comunicação científica designadas abaixo:

ARTIGOS ORIGINAIS: trabalhos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas de natureza empírica ou experimental original, cujos resultados possam ser replicados e/ou generalizados. Deverão atender aos princípios de objetividade e clareza da questão norteadora. Os artigos originais deverão ser estruturados de maneira a conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 250 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

ARTIGOS DE REVISÃO: trabalhos com avaliações críticas e sistematizadas da literatura sobre um determinado assunto que deverá dar

ao leitor uma cobertura geral acerca do tema apresentado. Os artigos de revisão deverão conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract não estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), texto ordenado (títulos e subtítulos), opiniões e conclusões (quando couber) e referências bibliográficas (até 30 referências). O trabalho não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências. Estes trabalhos são escritos a convite do editor.

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO: trabalhos descritivos e interpretativos com base em literatura recente sobre o estado atual de determinado assunto. Os critérios técnicos que deverão ser utilizados são os mesmos definidos para os Artigos de Revisão. Estes trabalhos são também escritos a convite do editor.

COMUNICAÇÃO BREVE: trabalhos originais cuja relevância para o conhecimento de determinado tema justifica a apresentação científica de dados iniciais de pequenas séries ou dados parciais de ensaios clínico-laboratoriais. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RELATO DE CASO: trabalhos com descrição detalhada e análise crítica de casos clínico-laboratoriais atípicos que, pela sua raridade na literatura ou apresentação não usual, merecem uma divulgação e discussão científica. Os relatos de casos deverão conter: título (até 200 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract com contexto e relato contendo descrição, discussão e conclusão (até 200 palavras), introdução, apresentação e relato do caso, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

NOTA TÉCNICA: Descrição/ validação de instrumentos, métodos e técnicas. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), introdução, metodologia e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto ordenado (títulos e subtítulos) não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RESENHA: Revisão crítica de obra recém publicada (até 3 anos), orientando o leitor quanto a suas características e usos potenciais. É fundamental que não se trate apenas de um sumário ou revisão dos capítulos da obra, mas efetivamente uma crítica. Este tipo de contribuição está limitado a 6 páginas, incluindo todos os seus elementos. Não há resumo/ abstract.

IMAGENS EM ANÁLISES CLÍNICAS: máximo de duas figuras com qualidade de 300 dpi gravadas em ".jpg" ou ".tif" e até 3 autores e três referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 300 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

CARTA AO EDITOR: correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (dois números anteriores) publicados na *Revista Brasileira de Análises Clínicas* ou ainda com relatos de pesquisas originais, achados técnico-científicos significativos, opiniões qualificadas sobre um tema específico das análises clínicas, bem como menções ou obituários de personalidades da área da saúde e análises clínicas onde deverá ser destacado seu perfil científico e sua contribuição acadêmica e profissional. Os autores de artigos originais citados por terceiros serão convidados a responder aos comentários e críticas a eles dirigidos. Nesta categoria, o texto tem formato livre, mas não deverá exceder 500 palavras e 5 referências.

EDITORIAIS: escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* avalia manuscritos para publicação em português e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é enfaticamente estimulada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e que, preferencialmente, esteja familiarizado com a área do trabalho. O Conselho Editorial, caso considere necessário, poderá enviar os manuscritos submetidos em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos. Em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos.

A estrutura geral do manuscrito deverá acompanhar a normalização técnica conforme o quadro abaixo.

ESTRUTURA DOS ARTIGOS	
Português	Inglês
Título Completo Incluir versão em Inglês	Complete Title Incluir versão em Português
Título Corrido Incluir versão em Inglês	Running Title Incluir versão em Português
Autores	Authors
Resumo Incluir versão em Inglês	Summary Incluir versão em Português
Palavras-Chaves Incluir versão em Inglês	Keywords Incluir versão em Português
Introdução	Introduction
Material e Métodos	Material and Methods
Ética	Ethics
Resultados	Results
Discussão	Discussion
Conclusão	Conclusion
Conflito de interesse	Conflicts of Interests
Suporte Financeiro	Funding Sources
Agradecimentos	Acknowledgements
Referências	References

TÍTULO COMPLETO: Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho. Recomenda-se iniciar pelo termo que representa o aspecto mais relevante da pesquisa com os demais termos em ordem decrescente de importância. O título não deverá conter nenhuma abreviatura e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (excetuando-se, quando for o caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

TÍTULO CORRIDO: Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho.

AUTORES: Os nomes completos dos autores por extenso, graus acadêmicos e filiação institucional deverão ser mencionados. O nome completo, endereço profissional, telefone e e-mail do autor responsável pelo manuscrito deverá ser especificado.

RESUMO: Deverá ser redigido de forma impessoal, bem como ser conciso e claro, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. Deverá ser elaborado ainda de forma estruturada, contendo introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado.

PALAVRAS-CHAVE: Deverão ser indicados termos que permitam a identificação do assunto tratado no trabalho. As palavras-chaves deverão ser extraídas do vocabulário DeCS [Descritores em Ciências da Saúde], elaborado pela Bireme, e/ou MeSH [Medical Subject Headings], elaborado pelo NLM [National Library of Medicine]. Os vocabulários DeCS (<http://decs.bvs.br/>) e MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>) deverão ser consultados, pois nenhuma outra palavra-chave será aceita.

INTRODUÇÃO: Deverá apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto. Nesta seção, as citações deverão ser restringidas ao mínimo necessário. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O último parágrafo deverá expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do resumo.

MATERIAL E MÉTODOS: Deverão ser apresentados de forma breve, porém suficiente para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção, deverão ser informados o desenho experimental e o material envolvido, bem como deverá ser feita a descrição dos métodos utilizados. Métodos já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referidos apenas por citação. Fontes de reagentes e equipamentos (empresa, cidade, estado e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser também, claramente, indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos.

ÉTICA: Nesta seção, deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação, quando estudos com seres humanos ou animais forem procedidos. Deverá ser mencionado também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição a qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, inclusive, informando, claramente, o número do parecer. O Corpo Editorial da Revista poderá recusar artigos que não cumpram rigorosamente os preceitos éticos da pesquisa.

RESULTADOS: Deverão ser apresentados em sequência lógica e com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, quadros e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando-se, desse modo, superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas.

DISCUSSÃO: Deverá ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, uma correlação com a literatura da área. Não deverá ser incluída uma revisão geral sobre o assunto. A repetição de resultados ou informações já apresentadas em outras seções, bem como especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos deverão ser evitadas.

CONCLUSÕES: Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, poderá ser incluída no item discussão, não havendo necessidade de repeti-la em item a parte.

CONFLITOS DE INTERESSE: Deverá ser informada, de maneira explícita, por todos os autores, a existência ou não de conflitos de interesse que podem derivar do trabalho. Não havendo conflitos de interesse, deverá ser escrito "Não há conflitos de interesse".

SUPORTE FINANCEIRO: Deverão ser informados todos os tipos de apoio, fomento ou financiamento obtidos para a realização do projeto de pesquisa.

AGRADECIMENTOS: Deverão ser curtos, concisos e restritos àquelas pessoas e/ou instituições que colaboraram com auxílio técnico e/ou recursos. No caso de órgãos de fomento, não deverão ser utilizadas siglas.

TABELAS: O título deverá ser breve e descritivo, apresentando de maneira precisa seu conteúdo e o contexto (ou amostra) a partir do qual a informação foi obtida. Deverá estar ainda inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por um número identificador em algarismos arábicos. A numeração das tabelas deverá ser feita consecutivamente, a partir da ordem de citação no texto. Serão permitidas notas explicativas de rodapé (legendas), indicadas por asteriscos e dispostas ao final da tabela. Para notas de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-Excel e enviadas em arquivo separado. Deverá ser evitado um número excessivo de tabelas.

FIGURAS: Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias. Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte inferior. Deverão ainda ser numeradas com algarismos arábicos, consecutivamente, na ordem de aparecimento no texto e citadas como figuras. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg" ou ".tif" e medir no mínimo 12 x 17cm e no máximo 20 x 25cm. As escalas deverão ser indicadas por uma linha ou barra na figura e referenciadas, se necessário, na legenda. Os gráficos deverão ser preparados nos programas Microsoft Word ou MS-Excel em formato ".doc", ".docx" ou ".xls" e não como imagem. Imagens produzidas em software estatístico devem ser convertidas para formato MS-Excel, caso não seja possível converter para formato ".tif". Ilustrações coloridas somente poderão ser aceitas se os autores assumirem os custos. Os dados apresentados nas figuras não deverão repetir aqueles já descritos nas tabelas. Os locais aproximados onde as ilustrações serão colocadas deverão ser determinados no texto. As figuras deverão ser enviadas em arquivos separados. Não deverão ser enviados um número excessivo de figuras.

REFERÊNCIAS: As referências, em todas as categorias de trabalho científico, deverão ser normalizadas de acordo com o estilo Vancouver publicado em Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals [Normas para Uniformização de Manuscritos Submetidos às Revistas Biomédica] pelo International Committee of Medical Journal Editors [ICMJE] (<http://www.icmje.org>) e que pode ser consultado em www.scielo.br/pd/rlrcbc/v35n6/v35n6a14.pdf (Versão em Português) ou em www.icmje.org/urm_full.pdf (Versão em Inglês). A abreviação dos títulos dos periódicos deverá seguir o recomendado em List of Journals Indexed in Index Medicus [National Library For Medicine] (<http://www.nlm.gov/tsd/serials/lji.html>) ou no Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde [Biblioteca Virtual em Saúde] (<http://portal.revistas.bvs.br/index.php?lang=pt>). Sugere-se incluir aquelas referências estritamente pertinentes à problemática abordada e evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. A lista das referências deverá ser numerada de acordo com a ordem em que os autores foram citados no texto e não em ordem alfabética. Deverão ser listados somente os trabalhos consultados e citados no texto. Citações de "resumo", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências bibliográficas. A exatidão das referências será de responsabilidade exclusiva dos autores. As citações e menções no texto de informações colhidas em outras fontes, bem como as referências bibliográficas deverão seguir o exposto abaixo:

TEXTO: Deverá ser utilizado em todo o manuscrito o Sistema de Chamada Numérico. Neste sistema, as citações dos documentos deverão ter numeração única e consecutiva, indicada pelo número da referência em expoente e entre parênteses. Os autores serão numerados por ordem de sua citação no texto, independentemente da ordem alfabética. As referências citadas em legendas de tabelas e figuras deverão manter a sequência com as referências citadas no texto. O mesmo trabalho mencionado mais de uma vez deverá manter, sempre que aparecer, o primeiro número a ele atribuído.

Observações Gerais:

- Quando houver dois autores, deverá ser utilizada a partícula "e" entre os sobrenomes;

- Quando houver 3 ou mais autores, deverá ser indicado apenas o primeiro sobrenome seguido da expressão latina "et al.";

- Quando uma entidade, corporação, editores ou projetos editoriais assumirem a responsabilidade integral pelo documento deverão ser indicados/ tratados como autores;

- Nomes contendo mais de um sobrenome deverá ser indicado o último sobrenome, sem partículas de ligação como "de" ou "da";

- Sobrenomes duplos, com hífens ou apóstrofes ou que formem uma expressão deverão ser indicados em seu conjunto;

- Termos relacionados a graus de parentesco (filho, júnior, neto, sobrinho), deverão ser indicados após os sobrenomes e por extenso. Alguns exemplos de citações:

- **Um/dois autores:** No mesmo ano, Nishimura e Miyaji⁽²⁶⁾ mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.

- **Mais de dois autores:** Giannopoulos et al.⁽³²⁾ também observaram maior prevalência de NIC 1 em mulheres na faixa etária de 20 a 30 anos enquanto NIC 3 foi mais frequente em mulheres com mais de 50 anos.

- **Autores corporativos:** De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes,⁽¹⁷⁾ os sinais e sintomas de hiperglicemia incluem: polidipsia, poliúria, perda de peso, fome exagerada, visão embaçada, infecções repetidas na pele e mucosas, dificuldade na cicatrização de ferimentos, fadiga e dores nas pernas (má circulação).

- **Editores/ Projetos editoriais:** Conforme o Dicionário de Especialidades Farmacêuticas,⁽⁵⁾ a meia-vida inicial da anfotericina B é de 24-48 horas e sua meia-vida terminal é de 15 dias.

- **Sem indicação de nome de autor:** O diagnóstico de hipertireoidismo, por sua vez, é dado a partir de resultados baixos de T4 livre e elevados de TSH.⁽¹⁴⁾

AUTORES: Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas e pontos. Todos os autores deverão ser referenciados e separados por vírgulas (o mesmo é válido para livros), apesar do estilo Vancouver recomendar que apenas sejam indicados os 6 primeiros autores, quando o número de autores for maior. Deverão ser dados espaços após as vírgulas.

Observações Gerais:

- Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;

- Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;

- Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;

- Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;

- Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.

- Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informação complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO: Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula.

MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS: O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec. No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado

exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais (445-449, utilizar: 445-9).

EDIÇÃO E LOCAL DE PUBLICAÇÃO: As edições de documentos consultados deverão ser referenciadas após o título, em algarismos arábicos, seguidas de ponto e da palavra "edição" no idioma que figura na publicação original e de forma abreviada. Quando for a primeira edição, essa não deverá ser indicada. Quando houver a definição do local de publicação, este deverá ser indicado em seguida à edição.

PARÁGRAFOS: Quando a referência ocupar mais de uma linha, esta deverá ser reiniciada na primeira posição na linha inferior, sem recuos.

Alguns exemplos de referências:

Periódicos:

• **Um Autor:** Marques SA. Paracoccidiodomycosis. *Clin Dermatol.* 2012 Nov;30(6):610-5.

• **Mais de um autor:** Lee MY, Telisinghe PU, Ramasamy R. Cervical cancer in Brunei Darussalam. *Singapore Med J.* 2012 Sep;53(9):604-7.

• **Até seis autores:** Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Nagai S, Shibui S. Management of cytomegalovirus infection in a patient with malignant glioma treated with temozolomide and steroids. *Intern Med.* 2012;51(20):2967-71.

• **Mais de seis autores:** Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Córdoba S, et al. Cryptococcus neoformans *Cryptococcus gattii* Species Complex: an International Study of Wild-Type Susceptibility Endpoint Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Nov;56(11):5898-906.

• **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):205-42.

• **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.

• **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. *Cancer Control.* 2012; 19(4 Suppl):4-15.

• **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. *Allergol Int.* 2012;61(3):351-2.

• **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. *Ugeskr Laeger.* 2012;174(42):2518. • **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. *Proteomics.* 2012;12(19-20):2902-3.

• **Carta ao editor:** Dettenkofer M, Conrad A. Hand hygiene prevents MRSA transmission [letter]. *Dtsch Arztebl Int.* 2010;107(8):139.

• **Artigo com DOI:** Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly aggressive new guidelines for lipid screening in children: evidence of a broken process. *Pediatrics.* 2012 Aug;130(2):349-52. doi: 10.1542/peds.2012-0481.

• **Autor corporativo:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of fungal infection associated with injection of methylprednisolone acetate solution from a single compounding pharmacy - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012 Oct 19;61:839-42.

Livros:

• **Um autor/ mais de um autor:** Stockham SL, Scott MA. Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2011.

• **Autor de obra e de capítulo:** Rey L. Bases da parasitologia médica. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

• **Capítulo:** Rodrigues RMMS, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Camargo Pentead MV. *Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos.* Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2007. p. 72-80.

• **Responsabilidade intelectual destacada:** Diniz D, Sugai A, Guilhem D, Squinca F, organizadores. Ética em pesquisa: temas globais. Brasília: Editora UNB; 2008. Teses, Dissertações e Monografias:

• **Autor e indicação de grau:** Maranhão FCA. Análise da expressão gênica no dermatófito *Trichophyton rubrum* mimetizando a infecção in vitro: pH e diferentes fontes de carbono regulando genes. São Paulo. Tese [Doutorado em Genética] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 2008.

Eventos Científicos:

• **Anais com indicação de título:** Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007.

• **Anais com indicação de autoria, trabalho e título:** Neufeld PM, Melhem M, Szescs MW, Santos LH, Dornelas-Ribeiro M, Maia S, et al.

Espécies de *Candida* isoladas de pacientes leucêmicos. In: Anais do 5. Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007. p. 314.

Órgãos/ Instituições:

• **Um autor corporativo:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.

• **Mais de um autor corporativo:** Fundação Oswaldo Cruz; Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. Relatório de atividades: 2006. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2007.

Referências Legislativas:

• **Leis:** Brasil. Lei no. 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 20 set 1990; seção 1.

• **Decretos:** Brasil. Decreto no. 7.580, de 28 de junho de 2011. Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde - SUS, o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 29 jun 2011; seção 1.

• **Portarias:** Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.616, de 12 de maio de 1998. Expede diretrizes e normas para a prevenção e o controle da infecção hospitalar. *Diário Oficial da União* 13 mai 1998; seção 1.

• **Resoluções:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos. *Diário Oficial da União* 14 out 2005; seção 1.

Meios Eletrônicos:

• **Periódicos:** Mondelli AL, Niéro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Bruder- Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PIF. *Candida spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform).* *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* [periódicos na internet]. 2012 set [acesso em 29 de out 2012]; 18(3). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf>.

• **Referências legislativas:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 306, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de saúde [resolução RDC na internet]. *Diário Oficial da União* 10 dez 2004 [acesso em 28 out 2012]. Disponível em: <http://www.unesp.br/pgr/pdf/rdc30604anvisa.pdf>.

• **Eventos Científicos:** Albuquerque P, Kyaw CM, Saldanha RR, Brígido MM, Felipe MSS, Silva-Pereira I. Identification and Characterization of Phase-Specific cDNAs Encoding for Two Hydrophobins in the Fungus *Paracoccidiodomycosis brasiliensis*. In: 40. Congresso Virtual de Micologia de Hongos Patógenos em América Latina [evento na internet]. 2003 27jun-14jul; Caracas, Venezuela [acesso em 10 jul 2003]. Disponível em: <http://congresomicologia.ucv.ve>.

A tramitação de manuscritos será feita exclusivamente online pelo Sistema de Gestão de Publicações (SGP), no endereço: www.sgponline.com.br/rbac/sgp. Outras formas de submissão, não serão aceitas.

Observações Gerais:

• A comunicação entre os diferentes participantes do processo editorial de avaliação e publicação (autores, revisores e editor) será feita apenas de forma eletrônica pelo SGP, sendo o autor responsável pelo manuscrito informado automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status;

• Apenas o autor responsável pelo manuscrito deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema e posterior acesso por meio de login e senha;

• A RBAC comunicará individualmente, por e-mail, a cada autor a sua participação no manuscrito. Caso um dos autores não concorde com sua participação, o manuscrito será recusado;

• O SGP atribuirá a cada manuscrito um número de registro e o autor principal será notificado de que o manuscrito está completo e apropriado para iniciar o processo de revisão;

• Pedidos de fast-track poderão ser considerados desde que justificados e solicitados por orientadores e/ou coordenadores de programas de pós-graduação ou responsáveis por departamentos, laboratórios, setores ou serviços de instituições públicas ou privadas ou ainda se rigorosamente fundamentados por seus autores. Os pedidos de fast-track deverão vir endereçados ao editor da RBAC em documento em papel timbrado da instituição e carimbado por seus superiores hierárquicos.

MODELO DE DECLARAÇÃO

Declaração de Responsabilidade, Conflitos de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais

Os autores abaixo assinados vimos submeter o artigo intitulado "Título do Artigo" à apreciação do Corpo Editorial da *Revista Brasileira*

de Análises Clínicas - RBAC para sua publicação. Nesta oportunidade, declaramos estar de acordo com que os direitos autorais referentes ao artigo em tela tornem-se propriedade exclusiva da RBAC desde sua submissão, sendo vedada a reprodução total ou parcial, em qualquer meio de divulgação, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e concedida pela editoria da RBAC. Declaramos também que o artigo não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros e que seu conteúdo é de inteira responsabilidade dos autores. Declaramos ainda que este é um trabalho original e que não foi publicado anteriormente e nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, tanto no formato impresso quanto no eletrônico. Os autores confirmam estar cientes e concordantes com a publicação do artigo na RBAC e afirmam não haver qualquer tipo de conflito de interesse do tema abordado no artigo com pessoas, entidades ou instituições.

Nomes dos autores e assinaturas:

1. _____
 2. _____
 3. _____
 4. _____
 5. _____
- Data: ____/_____/_____.