

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

Emerson dos Santos de Souza

**IMPLANTAÇÃO DA METODOLOGIA DE RAST PARA DETERMINAÇÃO DO  
PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE RESISTÊNCIA BACTERIANA EM UM  
LABORATÓRIO CLÍNICO COM METODOLOGIA MANUAL**

Porto Alegre

2023

Emerson dos Santos de Souza

**IMPLANTAÇÃO DA METODOLOGIA DE RAST PARA DETERMINAÇÃO DO  
PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE RESISTÊNCIA BACTERIANA EM UM  
LABORATÓRIO CLÍNICO COM METODOLOGIA MANUAL**

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<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lisiane Rocha  
Coorientador: Esp. Pablo Bubols

Porto Alegre

2023

### CIP - Catalogação na Publicação

Souza, Emerson dos Santos de  
Implantação da metodologia de RAST para  
determinação do perfil de suscetibilidade de  
resistência bacteriana em um laboratório clínico com  
metodologia manual / Emerson dos Santos de Souza. --  
2023.

32 f.

Orientadora: Lisiane Rocha.

Coorientador: Pablo Bubols.

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, 2023.

1. Sepsis. 2. Anti-infecciosos. 3. Hemocultura. 4.  
Estudo de validação. I. Rocha, Lisiane, orient. II.  
Bubols, Pablo, coorient. III. Título.

## RESUMO

**Introdução:** A infecção da corrente sanguínea é definida como uma infecção na corrente sanguínea ocasionada pela presença de agente etiológico como, bactérias, fungos, vírus e protozoário. Devido a necessidade de um diagnóstico mais rápido em pacientes com quadro de sepse, em 2018 o EUCAST padronizou a técnica de RAST que realiza teste de susceptibilidade diretamente do frasco de hemocultura positivo podendo ser interpretado em 4h, 6h e 8h após a realização. **Objetivos:** O estudo visa validar a técnica de RAST em um laboratório sem o uso de automação para determinar o perfil de suscetibilidade bacteriana frente aos antibióticos testados. **Material e Métodos:** O total de 55 de amostras de hemoculturas positivas com morfologia de bacilo gram-negativo visualizados através da coloração de gram incluídos para a técnica de RAST utilizando 6 antibióticos a ser interpretados para resistência bacteriana em 6h de incubação. A identificação bacteriana é realizada através de testes bioquímicos necessitando de cultura primária para crescimento bacteriano e posteriormente realização de inóculo bacteriano para teste de susceptibilidade com disco difusão e comparados com a realização de teste de susceptibilidade direto do frasco de hemocultura sinalizados como positivos. **Resultados:** Os antimicrobianos amicacina e piperacilina+tazobactam apresentaram maiores variações entre as classificações mencionadas. Para isolados onde a resistência bacteriana é encontrada no método RAST, encontramos a mesma concordância para estes isolados no método testado. **Conclusões:** Dentre os microrganismos apresentados mostrando seu perfil de resistência, a concordância frente ao método foi de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter sp.*

**Palavras-chave:** sepse; anti-infecciosos; hemocultura; estudo de validação.

## ABSTRACT

**Introduction:** Bloodstream infection is defined as an infection in the bloodstream caused by the presence of an etiological agent such as bacteria, fungi, viruses and protozoa. Due to the need for a faster diagnosis in patients with sepsis, in 2018 EUCAST standardized the RAST technique that performs a susceptibility test directly from the positive blood culture bottle and can be interpreted in 4h, 6h and 8h after completion. **Objectives:** The study aims to validate the RAST technique in a laboratory without the use of automation to determine the bacterial susceptibility profile to the antibiotics tested. **Material and Methods:** A total of 55 positive blood culture samples with gram-negative bacillus morphology visualized through gram staining were included for the RAST technique using 6 antibiotics to be interpreted for bacterial resistance in 6 hours of incubation. Bacterial identification is carried out through biochemical tests requiring primary culture for bacterial growth and subsequently carrying out bacterial inoculum for susceptibility testing with disk diffusion and compared with carrying out a susceptibility test directly from the blood culture bottle flagged as positive. **Results:** The antimicrobials amikacin and piperacilia+tazobactam showed greater variations between the mentioned classifications. For isolates where bacterial resistance is found in the RAST method, we found the same agreement for these isolates in the tested method. **Conclusions:** Among the microorganisms presented showing their resistance profile, agreement with the method was *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter* sp.

**Keywords:** sepsis; anti-infective agents; blood culture; validation study.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Objetivos .....</b>	<b>7</b>
1.1.1 Objetivo geral .....	7
1.1.2 Objetivos específicos.....	8
<b>2 ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>9</b>
<b>3 CONCLUSÃO .....</b>	<b>25</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>26</b>
<b>ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS .....</b>	<b>28</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A infecção de corrente sanguínea (ICS) é definida pela presença de agente etiológico como, bactérias, fungos, vírus e protozoário acarretando diversas manifestações clínicas no organismo.<sup>(1)</sup> A presença de dispositivos médicos, idade e comorbidade favorece a entrada de microrganismos e internações em unidade de terapia intensiva (UTI) devido a sua gravidade.<sup>(2)</sup> Múltiplas interações entre o patógeno e o hospedeiro ocorrem durante a infecção, principalmente com receptores inatos da imunidade como CD14 e TLR4 entre bactérias gram-negativas. Para o início do diagnóstico laboratorial alguns sintomas podem aparecer como: febre >38,5°, hipotermia <36,0°, leucocitose, hipotensão e hipoxemia.<sup>(3)</sup>

No Brasil, segundo o relatório nacional do Instituto Latino-Americano de Sepse (ILAS) dos 14.366 pacientes incluídos no banco de dados no ano de 2022, 10.751 tiveram sepse como desfecho.<sup>(4)</sup> A gravidade da enfermidade permite o diagnóstico de bacteremia de exclusividade laboratorial através de hemocultura.

A hemocultura se torna urgência para microbiologistas devido ao aumento de resistência bacteriana mundialmente e se inicia em um procedimento totalmente estéril de coleta de sangue (entre 5 e 10 ml de volume) de dois sítios diferentes, evitando contaminantes colonizadores de pele para averiguar a presença de patógenos anaeróbios ou aeróbios. A técnica após apresentar positividade permite a realização de bacterioscopia através da coloração de Gram e cultivo em meios sólidos específicos para crescimento bacteriano, realizando posteriormente provas bioquímicas de identificação.<sup>(5,6)</sup>

Para evitar possíveis perdas de patógenos clinicamente significante a recomendação da incubação da hemocultura automatizada é de 120h (5 dias), o que favorece o crescimento microbiológico adequado para o diagnóstico e tratamento em pacientes com ICS, assim evitando minimizar tempos desnecessários de incubação.<sup>(7)</sup>

A técnica padrão-ouro descrita por Bauer e Kirby utiliza método disco-difusão para averiguar resistência aos antimicrobianos de forma qualitativa se tornou amplamente utilizada em laboratórios clínicos pelo seu baixo custo e fácil reprodução.<sup>(8)</sup> Segundo o *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCast) que assegura normas de realização e interpretação de halos de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) no Brasil, o tempo mínimo para leitura de halos de inibição varia entre 16h e 20h de incubação.<sup>(9)</sup>

Com o intuito de diminuir o tempo de leitura de halos de inibição aos antimicrobianos em hemocultura positivas e direcionar antimicrobianos adequados para a terapia em pacientes em quadro de sepse, técnicas começaram a surgir no mercado para melhorar o diagnóstico.<sup>(10,11)</sup> Devido ao alto custo de técnicas como de biologia molecular e pela técnica de ionização, que utiliza a interação de moléculas que são transportadas por um tubo a vácuo resultando em leitura por um detector entre 5-15 minutos favorecendo casos mais complexos de identificação, gerando dificuldade para laboratórios com menor custo para implementação dessas tecnologias.<sup>(12)</sup> O *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) desenvolveu teste rápido de sensibilidade antimicrobiana eucast (RAST) feito diretamente de frascos de hemoculturas positivas, sem a necessidade de cultivo primário utilizando pontos de cortes específicos para determinados microrganismos.<sup>(13)</sup> Estudos demonstram a aplicabilidade da RAST com menor tempo de visualização no TSA, onde poderá ser visualizado entre 4h, 6h e 8h de incubação.<sup>(14,15)</sup>

Com a necessidade de um diagnóstico microbiológico mais rápido em hemoculturas positivas para ajuste da terapia antimicrobiana para o manejo adequado da sepse, a técnica de RAST traz consigo um menor tempo de leitura de sensibilidade aos antimicrobianos comparado com leituras manuais padrão melhorando a otimização de ajuste terapêutico. Tendo em vista as particularidades e dificuldades de laboratórios onde não utilizam automação para identificação bacteriana e resistência bacteriana em hemocultura e a baixa literatura em estudos, o presente estudo tem como objetivo validar a técnica de RAST em um laboratório de microbiologia clínica sem a utilização de automação.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo geral**

Validar e padronizar a técnica de RAST com amostras de hemoculturas positivas visualizadas morfologia de bacilo gram-negativo através da coloração de gram para pesquisa de Enterobactérias retiradas do aparelho Bactime e BactAlert120 de um hospital SUS de pequeno porte na capital de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. O estudo foi utilizado com amostras de hemoculturas que após seriam descartadas,

seguindo o fluxo da rotina laboratorial. Todos os dados foram analisados e avaliados sem a identificação do paciente. O estudo não gerou alteração do manejo do paciente, pois na rotina laboratorial seguiu o processo de validação de metodologia, sem necessidade de submissão ao comitê de ética. Na segunda etapa do estudo, estaremos aumentando o número de amostras e realizando a correlação clínica dos resultados. Para esse processo, será submetido ao comitê de ética da instituição.

#### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) Realizar a validação da técnica de RAST em amostras de hemoculturas observadas no bacterioscópico com bacilos gram-negativo.
- b) Avaliar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos com o tempo de leitura em 6h
- c) Comparar os resultados obtidos com técnica padrão de cultivo bacteriano primário;
- d) Averiguar a acurácia da RAST nas amostras testadas.

### **3 CONCLUSÃO**

Conclui-se neste estudo que a metodologia de RAST em laboratórios sem automação é promissora, mas que necessita de padronizações adequadas em seus pontos de corte. Necessita-se estudos com mais amostras clínicas para a realização de uma validação mais robusta. Em nosso estudo nota-se a compatibilidade em RAST e a padronização padrão por disco difusão através de colônias puras cultivadas, o que fornece benefícios a hospitalizações mais grave com a redução do tempo resultado de antibiograma.

## REFERÊNCIAS

1. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2013 Jun; 19(6):501–509.
2. Morello LG, Dalla-Costa LM, Fontana RM, Netto ACSO, Petterle RR, Conte D, et al. Assessment of clinical and epidemiological characteristics of patients with and without sepsis in intensive care units of a tertiary hospital. *Einstein São Paulo.* 2019;17(2):eAO4476.
3. Siqueira-Batista R, Gomes AP, Calixto-Lima L, Vitorino RR, Perez MCA, Mendonça EG et al. Sepsis: atualidades e perspectivas. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2011 Jun;23(2):207-216.
4. ILAS. Instituto Latino Americano da Sepsis. Programa de melhoria de qualidade: protocolos gerenciados de sepsis: relatório nacional: ano de referência 2022. São Paulo: ILAS; 2023. Disponível em: <https://ilas.org.br/relatorio-nacional-2022/>. Acesso em: 2 mar. 2023.
5. Lalezari A, Cohen MJ, Svinik O, Tel-Zur O, Sinvani S, Al-Dayem YA, et al. A simplified blood culture sampling protocol for reducing contamination and costs: a randomized controlled trial. *Clin Microbiol Infect.* 2020 Apr;26(4):470-474.
6. Rupp ME, Cavalieri RJ, Marolf C, Lyden E. Reduction in blood culture contamination through use of initial specimen diversion device. *Clin Infect Dis.* 2017 Jul;65(2):201-205.
7. Ulrich PS, Bastian IN, Chen DJ. Clinical significance of BD Bactec FX blood culture incubation beyond 96 hours (4 Days). *J Clin Microbiol.* 2022 Jul;60(7):e00549-22.
8. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966 Apr;45(4):493-496.
9. BrCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte, instruções e outros documentos. Rio de Janeiro: BrCAST; 2023. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 3 mar. 2023.
10. Le Page S, Dubourg G, Rolain JM. Evaluation of the Scan® 1200 as a rapid tool for reading antibiotic susceptibility testing by the disc diffusion technique. *J Antimicrob Chemother.* 2016 Dec;71(12):3424–3431.
11. Peker N, Couto N, Sinha B, Rossen JW. Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches. *Clin Microbiol Infect.* 2018 Sept;24(9):944-955.
12. Pasternak J. New methods of microbiological identification using MALDI-TOF. *Einstein São Paulo.* 2012 Mar;10(1):118-119.

13. Åkerlund A, Jonasson E, Matuschek E, Serrander L, Sundqvist M, Kahlmeter G, et al. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories. *J Antimicrob Chemother.* 2020 Nov;75(11):3230-8.
14. Jonasson E, Matuschek E, Kahlmeter G. The EUCAST rapid disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles. *J Antimicrob Chemother.* 2020 Apr;75(4):968-978.
15. Martins A, Wink P, Pereira D, Souza A, Aquino V, Barth A. Rapid antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae by disk diffusion directly from blood culture bottles using the EUCAST RAST breakpoints. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020 Sept;22:637-642.

# 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*

RBAC

ISSN 2448-3877 – Versão Online

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* – RBAC foi lançada em 1969 e é o órgão oficial de divulgação científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC. A RBAC tem publicação trimestral, exclusivamente eletrônica, e está indexada nos repositórios de publicações científicas de acesso aberto CrossRef Search, Diretório de Políticas Editoriais das Revistas Científicas Brasileiras (Diadorim – IBICT), Electronic Journals Library – University Library of Regensburg (EZ3), Google Scholar, LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), Portal para Periódicos de Livre Acesso na Internet (LivRe), Qualis Periódicos (CAPES), Repositório da Produção Intelectual da USP (ABCD USP), Sumários.org.

A RBAC é dedicada à divulgação de pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida, relacionada à medicina laboratorial e às várias áreas das Análises Clínicas, em português, espanhol e inglês. Todos os manuscritos enviados para publicação na RBAC passam por revisão cega por pares, ao menos, por dois especialistas na área.

### Questões éticas

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 dos direitos autorais. 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 na seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética em Pesquisa – CEP da instituição responsável pela investigação deverá ser também aí declarado. Uma cópia em “.pdf” da aprovação do CEP deverá ser encaminhada juntamente com o manuscrito, na forma de anexo. 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 aprovação 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 clínico-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.ensaiosclinicos.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.

### Avaliação dos manuscritos

Apenas serão recebidos manuscritos que estejam rigorosamente de acordo com as normas aqui especificadas. Os manuscritos serão avaliados por revisores indicados pelo Conselho Editorial e/ou, eventualmente, pelos autores. Quando indicados pelos autores, deverá ser informado nome completo do(s) revisor(es), e-mail e instituição de origem. O Conselho Editorial se reserva o direito, no entanto, de acatar ou não a sugestão de 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 revisores serão informados imediatamente aos autores. A sugestão de adequações feitas pelos revisores não garante a publicação, uma vez que outros critérios também serão levados em consideração até o aceite definitivo do manuscrito. A decisão de rejeitar um manuscrito não reflete, necessariamente, uma avaliação negativa da pesquisa ou do texto, mas se baseia em critérios editoriais como originalidade, escopo, solidez, tamanho amostral, impacto dos resultados na área laboratorial e equilíbrio da cobertura temática da RBAC.

### Áreas temáticas

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* enquadra os artigos em 12 áreas temáticas, cuja indicação deverá ser feita pelos autores, no momento da submissão do manuscrito, sendo elas:

1. Bacteriologia Clínica
2. Biologia Molecular
3. Bioquímica Clínica
4. Citologia Clínica
5. Gestão e Controle da Qualidade
6. Hematologia Clínica
7. Imunologia e Virologia Clínica
8. Micologia Clínica
9. Parasitologia Clínica
10. Patologia Clínica Veterinária
11. Uroanálise e Líquidos Biológicos
12. Outras áreas afins.

#### Categorias de artigos

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

**Artigo 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 com até 250 caracteres, incluindo espaços, título abreviado com até 40 caracteres, incluindo espaços, resumo/abstract estruturado com até 250 palavras, 3 a 5 descritores (palavras-chave/keywords), texto ordenado com títulos e subtítulos, considerações finais e referências. O trabalho não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, figuras e referências.

**Artigo original.** Trabalhos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas de natureza empírica ou experimental original, e que 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 com até 250 caracteres, incluindo espaços, título abreviado com até 40 caracteres, incluindo espaços, resumo/abstract estruturado com até 250 palavras, 3 a 5 descritores (palavras-chave/keywords), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências (até 60). O texto não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, figuras e referências.

**Carta ao Editor.** Correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (até 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 800 palavras e 5 referências.

**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 com até 250 caracteres, incluindo espaços, título abreviado com até 40 caracteres, incluindo espaços, resumo/abstract estruturado com até 250 palavras, 3 a 5 descritores (palavras-chave/keywords), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências (até 30). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, figuras e referências.

**Editorial.** Contribuição original escrita a convite do Editor, sob tema específico, mas considerando o escopo da *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

**Imagens em Análises Clínicas.** Máximo de duas figuras com qualidade de 300 dpi gravadas em ".jpg", ".tif" ou ".png" e até 3 autores e 3 referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 500 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

**Nota técnica.** Descrição/ validação de instrumentos, métodos e técnicas. Sua estruturação deverá conter: título com até 250 caracteres, incluindo espaços, título abreviado com até 40 caracteres, incluindo espaços, resumo/abstract estruturado com até 200 palavras, 3 a 5 descritores (palavras-chave/keywords), introdução, metodologia e referências (até 30). O texto ordenado (títulos e subtítulos) não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, figuras e referências.

**Posicionamento da SBAC.** Contribuição original escrita a convite do Editor para informar sobre posicionamento oficial da SBAC sobre tema específico. Poderão ser estruturados como artigo original, caso pertinente.

**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 com até 250 caracteres, incluindo espaços, título abreviado com até 40 caracteres, incluindo espaços, resumo/abstract com contexto e relato contendo descrição, discussão e conclusão com até 250 palavras, 3 a 5 descritores (palavras-chave/keywords), introdução, apresentação e relato do caso, discussão, conclusão e referências (até 30). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, figuras e referências.

#### Língua e Estrutura

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* avalia manuscritos para publicação em português, espanhol e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é enfaticamente priorizada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e, de preferência, 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.

Os manuscritos deverão ser escritos em processador de texto com extensão ".doc" ou ".docx", utilizando fonte Arial, tamanho 12, espaçamento de linhas 1,5 (espaçamento ZERO antes e depois), e margens personalizadas em 2,5 em todas as direções.

A estrutura geral do manuscrito, a depender da categoria do artigo, deverá atender a seguinte ordem:

**Título completo:** Deve ser conciso e conter informações relevantes que possibilitem a recuperação do artigo nas bases de dados. O limite é de 250 caracteres, incluindo espaços. Evitar abreviaturas no título e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (excetuando-se, quando foro caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

**Título abreviado:** Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho. O limite é de 40 caracteres, incluindo espaços.

**Autoria e Afilições:** O nome completo do autor principal e coautores deve ser incluído seguindo o formato pelo qual já é indexado nas bases de dados e constante no ORCID. Podem ser incluídas até três hierarquias institucionais de afiliação (por exemplo: universidade, faculdade, departamento). O nome e endereço eletrônico do autor responsável pelo manuscrito deve ser indicado para troca de correspondência.

**Resumo/Abstract/Resumen:** Deverá ser redigido de forma impessoal, bem como ser conciso e claro, destacando os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. As especificações quanto ao tipo de resumo estão descritas em cada uma das categorias de artigos. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado. A versão em inglês (*Abstract*) deve ser incluída. Para manuscritos em espanhol (*Resumen*), as versões em português (*Resumo*) e inglês (*Abstract*) deverão ser incluídas. O limite é de 250 palavras.

**Descritores:** Para manuscritos escritos em português ou espanhol, devem ser indicados entre 3 a 5 descritores extraídos do vocabulário "Descritores em Ciências da Saúde" (DeCS), elaborado pela BVS/Bireme (<http://decs.bvs.br/>), no idioma original. Para manuscritos em inglês, e para os descritores em inglês (*keywords*), utilizar o *Medical Subject Headings*

(MeSH), elaborado pela *National Library of Medicine* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>). Se não forem encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos livres.

**Introdução:** Deverá apresentar a justificativa para a realização do estudo, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto, apoiados em referências pertinentes. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O objetivo do manuscrito deve estar explícito no final da introdução.

**Material e métodos:** Deverão ser descritos de forma clara para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção, deverão ser informados o desenho experimental (população, tamanho amostral, instrumentos de coleta e processamento de dados), o material envolvido, a descrição dos métodos utilizados, as variáveis analisadas e a(s) hipótese(s) testada(s). Devem ser incluídas as devidas referências para as técnicas e métodos empregados, inclusive os métodos estatísticos. Métodos já publicados, a menos que tenham sido modificados, deverão ser referidos apenas por citação. É fundamental que os métodos novos ou substancialmente modificados sejam descritos, justificando-se as razões para seu uso e mencionando-se suas limitações. Fontes de reagentes e equipamentos (marca e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser claramente indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos. Os critérios éticos de pesquisa devem ser expressamente mencionados nesta seção. Deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação nos estudos conduzidos com seres humanos (direta ou indiretamente) ou com animais. Deverá ser mencionada também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição a qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, com inclusão do 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, acompanhados de gráficos, tabelas e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas. Os resultados provenientes de análises estatísticas devem ser detalhados.

**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. Caso o(s) autor(es) opte(m) por realizar a discussão juntamente com os resultados, este item deverá ser nominado "Resultados e Discussão".

**Conclusões ou Considerações finais:** Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, poderão ser incluídas no item discussão, não havendo necessidade de repeti-las 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. 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.

**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.

**Referências:** As orientações sobre referências serão abordadas a seguir.

**Tabelas:** Devem ser apresentadas no final do texto, após as referências, e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. O título deverá estar inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por algarismo arábico; e deverá ser breve e descritivo. Serão permitidas notas explicativas de rodapé (legendas) dispostas ao final da tabela. Para notas de rodapé, deverão ser utilizados algarismos romanos ou símbolos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior. Não utilizar traços internos horizontais ou verticais. 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 entre linhas 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 17 cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. Se houver tabela extraída de outro trabalho publicado previamente, a fonte deve ser explicitamente mencionada.

**Figuras:** Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias. Devem ser apresentadas no final do texto, após as referências, e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte superior. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg", ".tif" ou ".png" 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 Excel em formato ".docx" ou ".xls", respectivamente. Não serão aceitas figuras salvas como imagem. Imagens produzidas em software estatístico devem ser convertidas para formato ".xls", caso não seja possível converter para formato ".tif". Os dados apresentados nas figuras não deverão repetir aqueles já descritos nas tabelas. Os locais aproximados onde as figuras serão colocadas deverão ser determinados no texto.

#### Referências

A exatidão das referências será de responsabilidade exclusiva dos autores. As referências, em todas as categorias de artigos, 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 Biomédicas) pelo *International Committee of Medical Journal Editors – ICMJE*.

Sugere-se incluir aquelas referências estritamente pertinentes à problemática abordada e evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação.

#### 1. Citação no 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 arábico da referência em expoente (sobrescrito) e entre parênteses, antes da pontuação no texto. 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.

Outras observações em relação à citação da referência no texto:

- Nos casos em que a **citação do nome do autor e ano for relevante**, o número da referência deve ser colocado seguido do nome do autor, antes do ano.

*Exemplo:* Segundo Urbuic *et al.* <sup>[12]</sup> (2022), a interferência medicamentosa nos resultados laboratoriais pode induzir a tratamentos desnecessários.

- Trabalhos com **dois autores** devem fazer referência aos dois autores

ligados pela conjunção “e”.

*Exemplo:* No mesmo ano, Nishimura e Miyaji <sup>(26)</sup> mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.

- Nos outros casos de autoria múltipla, apresentar apenas o primeiro autor, seguido de “et al.” em itálico.

*Exemplo:* Giannopoulos et al. <sup>(32)</sup> também observaram maior prevalência de LSIL em mulheres na faixa etária de 20 a 30 anos enquanto HSIL foi mais frequente em mulheres com mais de 50 anos.

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

*Exemplo:* De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes <sup>(17)</sup>, 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.

- No caso de autores com sobrenomes compostos 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.

## 2. Lista de referências

A lista das referências deverá ser incluída após os agradecimentos e 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.

**2.1 Autores.** Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido de espaço e do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas, espaços ou pontos.

- No caso de publicações com até seis autores, todos devem ser citados; acima de seis, devem ser citados apenas os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al.”, em itálico.

*Exemplo:* Bilous RW, Jacklin PB, Maresh MJ, Sacks DA, Silva PH, Outiren PS, et al. Resolving the Gestational Diabetes Diagnosis Conundrum: The Need for a Randomized Controlled Trial of Treatment. *Diabetes Care*. 2021; 44(4):858-864. doi: 10.2337/dc20-2941.

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

*Exemplo:* McPherson RA, Pincus MR., editores. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 21 ed. São Paulo: Manole; 2012. P. 87-94.

- 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 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 (Disponível em:

<https://www.ufpe.br/documents/40070/848544/abntnabr6023.pdf/092b145a-7dce-4b97-8514-364793d8877e>), 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].

**2.2 Título do documento.** Os títulos dos trabalhos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, com exceção da primeira palavra, que deverá ser iniciada por letra maiúscula. Não usar negrito e/ou itálico no texto do título. O título do documento deverá ser finalizado por ponto.

**2.3 Título do periódico/jornal/revista e ano de publicação.** Os títulos dos periódicos/jornais/revistas consultados deverão ser referenciados de forma abreviada, de acordo com o PubMed, e finalizados com ponto. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano.

**2.4 Mês, volume, número e páginas.** O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, sem ponto, independente da língua do texto: Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec. A RBAC aceita a abreviação em português das referências originalmente publicadas nesse idioma: Jan, Fev, Mar, Abr, Maio, Jun, Jul, Ago, Set, Out, Nov, Dez.

A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula. Quando houver a indicação do mês, o mesmo deverá ser referenciado após o ano, sem pontuação, com espaço, seguido de ponto e vírgula. Volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. O número deverá ser representado entre parênteses e separado das páginas por dois pontos. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Sempre que possível, incluir o DOI do documento citado.

*Exemplo:* Galindo RJ, Ramos C, Cardona S, Vellanki P, Davis GM, Oladejo O, et al. Efficacy of a Smart Insulin Pen Cap for the Management of Patients with Uncontrolled Type 2 Diabetes: A Randomized Cross-Over Trial. *J Diabetes Sci Technol*. 2023 Jan;17(1):201-207. doi: 10.1177/19322968211033837.

**2.5 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. 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.

*Exemplo:* Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd. edition. Boston: Butterworths; 1990.

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

**2.7 Meios eletrônicos.** Referências extraídas de meios eletrônicos deverão seguir as regras específicas dependendo do tipo de referência. Ao final, deverá ser incluído o termo “Disponível em:”, seguido do link onde a referência foi consultada e ponto final. Depois do ponto deverá ser incluído o termo “Acesso em:” e a data completa em que a referência foi consultada.

*Exemplo:* Mondelli AL, Niéro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Brund Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PJF. *Candida spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform)*. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis*. 2012 Set;18(3). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf>. Acesso em: 29 de out 2012.

Para outros exemplos recomendamos consultar as normas da *National Library of Medicine (Citing Medicine 2nd edition)*, disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>