

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

Thiele Martinez Medina

**CANDIDEMIAS RELACIONADAS A BIOFILMES EM CATETERES. UM MINI
REVIEW.**

Porto Alegre

2020

Thiele Martinez Medina

**CANDIDEMIAS RELACIONADAS A BIOFILMES EM CATETERES. UM MINI
REVIEW.**

Trabalho de conclusão do 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. Alexandre Meneghello Fuentefria

Porto Alegre

2020

CIP - Catalogação na Publicação

Medina, Thiele Martinez
Candidemias relacionadas a biofilmes em cateteres.
Um mini review / Thiele Martinez Medina. -- 2020.
30 f.
Orientador: Alexandre Meneghello Fuentefria.

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. Candidemia relacionadas a cateteres. 2.
Biofilmes. 3. Resistência antifúngica. I. Fuentefria,
Alexandre Meneghello, orient. II. Título.

RESUMO

As candidemias por biofilmes aumentaram significativamente nos últimos anos, acometendo principalmente pacientes imunocomprometidos, e a colonização de cateteres está altamente relacionada com essas infecções. *Candida albicans* ainda é a espécie mais comumente encontrada, porém as não-albicans apresentaram um papel importante nos últimos anos. Em vista desse panorama, o presente artigo tem como objetivo avaliar a prevalência das espécies a nível mundial, as principais características de cada biofilme, bem como o impacto em relação ao tratamento antifúngico, considerando a alta capacidade da resistência dos biofilmes. Consideramos importante o progresso na compreensão do reconhecimento de biofilmes e sua adesão a superfícies, além dos diferentes fenótipos decorrentes, para projetar abordagens racionais de revestimentos eficazes, tanto quanto o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento com antifúngicos.

Palavras-chave: biofilmes, resistência fúngica, candidemia, resistência a biofilmes, cateter, características biofilmes.

ABSTRACT

Invasive biofilm candidiasis have significantly increased in the past few years, affecting mainly immunocompromised patients, and catheter colonization is highly related to these infections. *Candida albicans* is still the most commonly found species, however, non-*albicans* have played an important role in recent years. In view of this panorama, the present article aims to evaluate the prevalence of these species on a worldwide level, the main characteristics of each biofilm, as well as the impact in relation to antifungal treatment, considering the high capacity of the resistance of biofilms. We consider progress to be important in understanding the recognition of biofilms and their adhesion to surfaces, in addition to the different resulting phenotypes, to design rational approaches of effective coatings, as well as the development of new strategies for treatment with antifungals.

Keywords: biofilms, fungal resistance, invasive candidiase, biofilm resistance, cateter, characteristics biofilm.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
1.1	OBJETIVOS	7
1.1.1	Objetivo geral	7
1.1.2	Objetivos específicos	7
2	ARTIGO CIENTÍFICO	8
3	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	19
	REFERÊNCIAS	20
	ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA “CLINICAL & BIOMEDICAL RESEARCH – HCPA”	25

1 INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas invasivas são frequentemente associadas à leveduras do gênero *Candida* spp., fungos considerados oportunistas. *Candida* spp. é o gênero mais comumente encontrado, afetando principalmente pacientes críticos, imunocomprometidos de diferentes tipos, como pacientes oncológicos, prematuros, pacientes cirúrgicos, transplantados e com doenças crônicas [1, 4]. Por serem micro-organismos presentes na microbiota normal de pele e mucosas, esses micro-organismos se oportunizam em condições de vulnerabilidade [3,7]. Na maioria das vezes, a infecção por *Candida* spp. está relacionada com alterações e desequilíbrios entre micro-organismo-hospedeiro. Dentre os maiores fatores de riscos para aquisição da infecção, quando há esse desequilíbrio, está a internação prolongada, a colonização dentro de ambiente hospitalar e a utilização de cateteres [2,7]. Muitas das infecções sanguíneas são provenientes do sítio de inserção de cateteres. Isso ocorre devido à grande capacidade de formação de biofilmes por esses micro-organismos [4], que se aderem aos dispositivos, colonizando-os e servindo como porta de entrada para a corrente sanguínea [8]. Além de instrumentos médico-hospitalares, os biofilmes também podem aderir-se aos tecidos do organismo [5]. Os biofilmes são um fator de virulência importante para a patogênese da doença, e a sua capacidade de formação pode variar entre as espécies, sendo *Candida albicans* a espécie de maior capacidade de formar biofilmes [5]. Sabe-se que na maioria das vezes, o tempo de permanência em hospitais é maior em pacientes que adquirem infecções por biofilmes, o que leva ao aumento do número de mortes, portanto a remoção de cateteres nas primeiras 24h de candidemia pode levar a uma diminuição dessa mortalidade [4].

A formação de biofilmes pode causar um grande efeito na terapia antifúngica devido às resistências que podem surgir, pois os biofilmes tendem a ser menos susceptíveis aos antifúngicos do que as células leveduriformes planctônicas, ou seja, na sua forma solitária. Deste modo, é importante avaliar os efeitos dos compostos sobre a formação de biofilmes [5]. Apenas algumas classes de medicamentos antifúngicos estão disponíveis e por isso, a resistência antifúngica é uma complicação na escolha terapêutica entre as espécies de *Candida* spp. [6]. Essa restrição de classes de antifúngicos para o tratamento das infecções, gera a necessidade da realização de estudos de prospecção de novos compostos [1]. Há também uma preocupação com a resistência intrínseca de biofilmes aos antifúngicos, devido à alta densidade de células que há dentro de um biofilme, que pode levar ao desenvolvimento de resistência por diferentes mecanismos [5]. Nos casos de candidemia, é de extrema

importância a identificação do microrganismo a nível de espécie, pois os mecanismos de ação e perfil de resistência pode variar entre elas [8].

Por fim, saber a fonte da infecção e o local onde possa haver a adesão de biofilmes fúngicos, é indispensável para monitorar a situação e o tratamento, tanto para definir estratégias de redução, como para contribuir com a melhora do tratamento do paciente [9]. As infecções fúngicas, especialmente sanguíneas, pode se tornar um grave problema de saúde pública, portanto o conhecimento da sua prevalência, dos fatores associados e os principais locais de infecção são essenciais para combater esse problema [3].

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Realizar uma revisão apresentando dados sobre a formação de biofilmes por espécies do gênero *Candida* spp., relacionada ao uso de cateteres em infecções sanguíneas, bem como dados de prevalência das principais espécies

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Analisar as candidemias relacionadas ao uso de cateteres em relação a formação de biofilme nesses dispositivos;
- b) Destacar as principais espécies envolvidas e sua frequência em processos de candidemia, bem como, determinar os principais desafios relacionados ao combate do problema;
- c) Verificar o impacto causado pelos biofilmes em cateteres, citando a relação com as infecções dentro do ambiente hospitalar, o papel como fonte de disseminação de infecção e a contribuição na resistência ao tratamento antifúngico;
- d) Ressaltar o impacto relacionado ao tratamento e a necessidade de encontrar formas clinicamente relevantes para prevenir e tratar tais infecções.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

CANDIDEMIAS RELACIONADAS A BIOFILMES EM CATETERES. UM MINI REVIEW.

Thiele Martinez Medina¹ e Alexandre Meneguello Fuentefria^{1,2}

¹Especialização em Microbiologia Clínica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas invasivas são um importante e significativo problema de saúde, principalmente em pacientes imunocomprometidos [1,4,10]. Por muitas vezes, são causadas por leveduras, sendo a candidemia conhecida como uma das principais causas de morbimortalidade no ambiente hospitalar [11,43].

Diversas espécies de *Candida* spp. podem ser responsáveis pela infecção, e *Candida albicans* ainda se mostra mais prevalente, podendo variar conforme a localização global [11,42]. Apesar disso, o aumento das infecções por *Candida* não-*albicans* vem tendo um impacto significativo. E, entre as principais espécies envolvidas, podemos citar *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*, como as mais frequentes, e *Candida auris* como uma das mais emergentes dos últimos anos [11,30].

Por ser um micro-organismo presente na pele e em mucosas, a infecção invasiva por *Candida* spp., pode ser subsequente a colonização e assim, diretamente relacionada com o estado imunológico do paciente [3,7,13]. A colonização não é prejudicial em indivíduos saudáveis, porém o crescimento anormal de espécies de *Candida* spp. na flora pode ocorrer por meio de alterações associadas a uso de antimicrobianos, queimaduras, neutropenia e diabetes mellitus, gravidez, uso de ventilação mecânica, hemodiálise, acesso a nutrição parenteral, cirurgias e perfurações. Esses fatores podem predispor às candidemias, pois diferentes impactos nos tecidos, podem levar a microinvasões, causando danos à barreiras e liberando o acesso desses micro-organismos. Embora nem todos os casos progridam imediatamente para sepse grave ou choque séptico, isso pode causar disseminação de micoses, resultando em endoftalmite, candidíase hepatoesplênica, infecções fúngicas no sistema nervoso central, endocardite infecciosa ou abscessos em diferentes órgãos e tecidos, e, posteriormente, pode se estabelecer a sepse grave [18,43].

Sabe-se que a utilização de dispositivos médicos continua a aumentar rapidamente, sendo eles componentes essenciais dos cuidados de saúde. Uma ampla variedade destes dispositivos é utilizada para restaurar funções e qualidade de vida de pacientes hospitalizados, como por exemplo, a grande diversidade de cateteres, implantes, válvulas cardíacas, enxertos vasculares, parafusos ortopédicos, lentes de contato, entre outros dispositivos que podem ser de curto ou longo prazo [20]. Estes dispositivos permitem a administração segura de medicamentos por via intravenosa, além de ajudar na administração de fluidos intravenosos e no monitoramento dos parâmetros hemodinâmicos de pacientes em situações de choque séptico, choque cardiogênico, insuficiência cardíaca descompensada, e hipertensão pulmonar [16].

Diante do aumento do uso desses materiais e de todos os procedimentos hospitalares realizados diariamente em pacientes, sabe-se que a maioria dos casos de candidemia está relacionada a utilização de cateteres, pois os micro-organismos envolvidos possuem alta capacidade de colonizar e aderir-se a materiais sintéticos, desenvolvendo-se e formando biofilmes [23]. Essa formação de biofilme representa uma característica de virulência que aumenta o potencial invasivo de *Candida* spp., e os protegem de fatores externos, permitindo o rápido acesso a corrente sanguínea [5,9,13,14]. Desta forma, a porta de entrada através dos cateteres facilita a infecção, além de interferir na cicatrização, por exemplo, de implantes de joelho integrados ao tecido, pois podem diminuir a eficiência do organismo no combate a infecção e elevar as chances de resistência a antifúngicos [10,13]. Biofilmes aderidos a superfícies de dispositivos são, portanto, muito mais difíceis de erradicar, muitas vezes resultando na necessidade de revisão cirúrgica de uma quantidade substancial de implantes e de utilização de cateteres. Sabe-se que as infecções mais persistentes estão inevitavelmente associadas a biofilmes, pois estes são menos susceptíveis aos antifúngicos [9,12, 20].

O tratamento para o combate de biofilmes, exige a administração de altas doses de antifúngicos, elevando a toxicidade no organismo. As opções terapêuticas estão cada vez mais limitadas, devido à resistência de muitas espécies a antifúngicos de escolha [6,12]. Além disso, frequentemente a remoção de cateteres importantes se faz necessária para remoção do biofilme, pois nesses casos pode apresentar mais riscos que benefícios. Isso acarreta problemas para os pacientes, visto que, por muitas vezes, necessitam de acessos endovenosos durante a internação (como por exemplo, para pacientes com coagulopatia ou acesso vascular limitado), além de não ser viável financeiramente, acarretando altos custos hospitalares [13,8, 23]. Estima-se que o custo de cada internação hospitalar por um episódio de candidemia seja de aproximadamente US\$ 40.000. A incidência de candidemias

nosocomiais teve um incremento de cinco vezes na última década, e no Brasil a incidência é de 1,38 casos por 1000 internações, sendo considerado o quarto patógeno mais frequente em sepses nosocomiais na Europa [44].

Diante dessa problemática, esta revisão busca explorar a prevalência dos casos de infecções sanguíneas por biofilmes de *Candida* spp., diretamente relacionados com o uso de dispositivos médicos essenciais como cateteres, e o impacto em relação ao tratamento de biofilmes. Os principais desafios para o manejo da candidemia em relação a resistência a antifúngicos também serão abordados.

METODOLOGIA

Fonte de dados e coleta de arquivos

Foi realizada uma pesquisa sistemática na literatura, a partir de consultas nos bancos de dados PubMed, ScienceDirect e Scielo, selecionando artigos originais e de revisão, que abordaram informações de aspectos gerais e relevantes em relação as infecções sanguíneas por *Candida* spp., sua relação com os biofilmes e as consequências disso ao paciente, no âmbito hospitalar. A associação de palavras-chaves utilizadas incluiu “fungal biofilms”, “fungal infections”, “candida biofilms”, “candida”, “fungal resistance”, “invasive candidiasis”, “biofilm resistance”, “medical devices”, “cateter”, “characteristics”.

Critérios de seleção

a) A revisão buscou selecionar artigos publicados entre 2009 e 2020, que se enquadrassem no tema. Os critérios de inclusão e exclusão foram baseados nas características específicas relacionadas à busca de cada estudo, sendo lido título e resumo bem como referenciais, a fim de encontrar outras publicações de interesse.

b) Artigos relacionados a infecções por biofilmes de *Candida* spp. envolvendo cateteres foram incluídos aos critérios de seleção. Não foram incluídos na pesquisa, artigos envolvendo outras origens de infecção, por exemplo, candidíase no canal vaginal.

EPIDEMIOLOGIA DAS CANDIDEMIAS ENVOLVENDO BIOFILMES

O grande aumento na incidência das candidemias nas últimas décadas ocorreu principalmente por dois fatores importantes. Primeiro, a grande quantidade de pacientes imunocomprometidos que necessitam de tratamento, e depois a permanência hospitalar prolongada, que facilita o desenvolvimento dessas infecções [43]. A alta mortalidade e morbidade relacionadas às infecções fúngicas invasivas tornam o entendimento precoce da fonte, um papel central para diagnóstico [11,43].

Estima-se que as espécies *Candida* spp. são responsáveis por 70% a 90% das infecções fúngicas, seguidas pelas espécies de *Aspergillus*, sendo responsáveis por 10% a 20%, sendo que um terço das candidemias ocorre em unidades de terapia intensiva (UTI's) [43]. Nos Estados Unidos, *Candida* spp. é considerado o terceiro e quarto patógeno mais comumente encontrado, sendo responsável por 8% a 10% de isolados em hemoculturas. Na Europa, chega a ser responsável por 2% a 3%, estando entre sexto e décimo patógeno mais encontrado [30,31,43]. Na América latina, estudos demonstram que as taxas de incidência de candidemia oscilam entre 0,74 a 6,0 por 1000 internações hospitalares, podendo ter variações geográficas de epidemiologia [42]. No Brasil, essa incidência em hospitais públicos terciários é de aproximadamente 2,5 casos por 1000 admissões hospitalares [43].

A epidemiologia das candidemias tem sofrido mudanças nos últimos 20 anos, e apesar de *Candida albicans* ainda ser a principal levedura oportunista isolada em humanos, outras espécies de *Candida* spp. têm apresentado um aumento significativo nas infecções [31,43]. Um exemplo disso é que nos Estados Unidos, um estudo de vigilância demonstrou um aumento de 38% nas candidemias causadas por *Candida* não-*albicans*, quando comparado o início da década de 1990 e 2010 [42]. Vários outros fatores podem levar ao aparecimento de espécies diferentes de *Candida* spp.. Por exemplo, *Candida glabrata* é mais prevalente entre pessoas idosas, enquanto *Candida parapsilosis* é mais comum na Austrália e América do Sul. As espécies *Candida albicans* (18,8% a 66%), *Candida parapsilosis* (5% a 49%), *Candida tropicalis* (9,7% a 39%) e *Candida glabrata* (1% a 13,5%) foram as mais prevalentes em candidemias em todos os países da América Latina. No Brasil, Argentina e Colômbia, foi observada um aumento na frequência da *Candida glabrata*, o que leva a um impacto clínico importante, devido a sua menor sensibilidade aos azólicos [42]. Além disso, *C. parapsilosis* representou um importante agente de candidemia no Brasil, aparecendo em 15% a 30% das candidemias, podendo ser encontrada em todas as faixas etárias. *Candida tropicalis* aparece como segundo ou terceiro agente causador de candidemia em pacientes com câncer,

entretanto no Brasil, ao contrário de países da Europa e no Estados Unidos, apresentou-se em quantidade substancial em indivíduos não neutropênicos ou pacientes com câncer [17].

Sabe-se que um número significativo de episódios de candidemia está relacionado a procedimentos médicos invasivos e utilização de dispositivos em que a produção de biofilme de *Candida* spp. é o principal motivo da sua patogênese [4,8,10,11,23]. *Candida parapsilosis* já é a segunda ou terceira levedura relatada com maior frequência em diversos estudos, estando associada a biofilmes em cateteres internos e de nutrição parenteral como fonte de infecção, o que é um grande problema devido a falta de susceptibilidade a antifúngicos nos tratamentos desses biofilmes [17]. A colonização dos dispositivos médicos, além dos diversos sítios do corpo do paciente, leva ao aumento das chances de desenvolvimento de uma infecção invasiva, sendo comum em pacientes internados em UTI's, principalmente quando o tempo de internação ultrapassa sete dias. Portanto, é essencial diferenciar a candidemia relacionada ao cateter ou por exemplo uma candidemia proveniente de candidíase intra-abdominal, já que este último apresenta menor morbimortalidade [44].

O alto número de candidemias é um problema real e importante em pacientes internados, aumentando cada vez mais a preocupação com a alta incidência e prevalência de infecções causadas por espécies não-albicans e o surgimento de resistência antifúngica. Entre as espécies não-albicans, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis* são geralmente suscetíveis a azólicos, entretanto, *Candida tropicalis* é menos suscetível ao fluconazol do que *Candida albicans*. *Candida glabrata* pode ser intrinsecamente resistente ao fluconazol, assim como *Candida krusei*, que promove infecções fortemente associadas à profilaxia anterior com fluconazol, além de neutropenia [30, 17]. Muitas destas espécies são naturalmente sensíveis a diversos antifúngicos, porém quando expostas a altas doses, porém adquirir resistência, sem contar a alta capacidade de sobrevivência dos biofilmes a estes agentes [44]. *Candida albicans* ainda representa a espécie com menor número de cepas resistentes ao fluconazol, porém, ocasionalmente podem aparecer cepas mais resistentes em instituições únicas. A resistência ao fluconazol é um pouco maior em *Candida parapsilosis*, variando de 0 a 6,7%, e 0 a 6,2% para *Candida tropicalis*. Enquanto isso resistência em *Candida glabrata* não é incomum, variando de 5,6% a 15,7% [30].

Em relação a epidemiologia das candidemias e a crescente resistência a antifúngicos nos últimos anos, principalmente relacionadas a biofilmes, faz-se necessário o entendimento das mudanças e expectativas em relação a prevalência das espécies e seus desenvolvimentos de resistência. Estudos de vigilância multicêntricos contínuos de candidemia são necessários

para detectar quaisquer tendências regionais e históricas, em termos de distribuição de espécies e emergência de resistência antifúngica [10,30, 42].

FORMAÇÃO DE BIOFILME E IMPACTO EM RELAÇÃO A UTILIZAÇÃO DE CATETERES

Os biofilmes formam uma matriz polimérica de substâncias que, quando aderidas às células do hospedeiro, promovem a manutenção da colonização e o estabelecimento da infecção no organismo [11,22]. Além disso, possuem uma alta concentração celular e a expressão alterada dos genes de biossíntese de ergosterol favorecendo a infecção e colonização [11,29]. A forma de biofilme apresenta-se muito mais resistente quando comparada com a forma de célula planctônica, o que aparenta ser consequência da natureza multicelular dos biofilmes e da falta de permeabilidade dos medicamentos na matriz polimérica [22,32]. A alta capacidade que os biofilmes têm de se proteger contra a ação de antifúngicos e do sistema imunológico humano, é extremamente vantajosa e confere um fenótipo de virulência, complicando o tratamento das infecções em pacientes [5,9,19]. Ainda pode-se citar a capacidade de interação com a flora bacteriana comensal, criando um sinergismo e troca benéfica aos fungos, incluindo a interação entre espécies de *Candida* spp. que contribuem com o aumento da formação do biofilme [9].

Os biofilmes de *Candida* spp. têm uma alta capacidade de adesão a cateteres, que criam uma conexão externa com a corrente sanguínea, podendo ocasionar candidemias que representam um sério e importante problema clínico [4,8,10,11,23]. A maioria dessas infecções está relacionada ao uso de cateteres, o que resulta em um mau funcionamento destes e na infecção sistêmica [19]. No ambiente hospitalar, diversos tipos de cateteres fornecem o ambiente ideal para a adesão do biofilme. Cateteres cardíacos, vasculares, urinários e de sistema nervoso podem ser responsáveis por mais de 50% de infecções sistêmicas, quando colonizados por biofilmes [20, 24,25]. Além disso, podem levar a uma incidência aproximada de um episódio de infecção a cada 100 internações hospitalares, pois a produção de biofilmes e utilização do cateter por longos períodos pode resultar na persistência de um foco de infecção. A maioria dos pacientes internados possuem um cateter venoso central no momento do diagnóstico. [17, 35].

De acordo com estudos, a colonização do trato gastrointestinal, que determina a via endógena, tem um papel proeminente no desenvolvimento de infecções primárias por *Candida* spp., enquanto casos de candidemias relacionadas ao cateter ocorrem por vias

exógenas, ou seja, estão relacionadas com a colonização da pele do paciente e do contato dos profissionais de saúde [44]. A colonização associada ao cateter pode variar entre as espécies de *Candida* spp. mais comumente encontradas nos hospitais. Entre elas, *Candida parapsilosis* exibe maior capacidade de adesão a superfícies, incluindo os cateteres, e por isso, é um dos agentes causadores mais encontrados em infecções sanguíneas relacionadas a dispositivos médicos. *Candida tropicalis*, também possui uma grande capacidade de adesão, que a torna mais resistente para se desprender dos materiais, embora sua matriz extracelular tenha um menor teor de proteínas e carboidratos [9,29].

A maior parte dos casos de candidemia relacionada ao cateter envolvem essa colonização de micro-organismos nas superfícies do cateter, onde eles agregam-se e formam os biofilmes. Esses biofilmes apresentam resistência a maioria dos antifúngicos, portanto, representam um problema importante, ressaltando a necessidade de encontrar novas formas clinicamente relevantes para prevenir e tratar essas infecções [23].

O TRATAMENTO DAS CANDIDEMIAS E A RESISTÊNCIA A ANTIFÚNGICOS OCACIONADA PELOS BIOFILMES

Atualmente, a recomendação principal determinada por diretrizes é a remoção do dispositivo infectado, quando há suspeita de infecção relacionada a ele [8,28]. Essa conduta pode ser tomada devido à falta de medicamentos antifúngicos que sejam eficazes no tratamento de biofilmes. Apesar disso a remoção nem sempre é viável, e implica em aumento de gastos na saúde e complicações ao paciente. Sabe-se que o sucesso do tratamento está ligado a uma intervenção terapêutica precoce, para que a carga fúngica seja reduzida em pouco tempo [27]. Sendo assim, a terapia antifúngica torna-se necessária como profilaxia e pode acarretar a persistência das infecções fúngicas, além de ser necessária a utilização de altas doses de medicamento, elevando a toxicidade no organismo do paciente e afetando rins e fígado, bem como outros locais [8,23,24,25].

Diante disso, se faz necessário o estudo e o entendimento do mecanismo genético e bioquímico dos biofilmes, além das características fenotípicas que acarretam a resistência [33]. Estudos buscaram explorar a formação de biofilme de cinco espécies diferentes de *Candida* spp. (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*) em três materiais utilizados na clínica, foram eles PVC, Teflon™ e poliuretano. Foi verificado que biofilmes de todas as espécies de *Candida* spp. formaram-se rapidamente em Teflon™, exceto *C. glabrata*, que exibiu maior formação de biofilme no PVC. Isso mostrou a

importância de considerar o contexto de todas as espécies colonizadoras, bem como as propriedades do material.

Estratégias vem sendo estudadas para o manejo da adesão dos biofilmes aos dispositivos médicos, como por exemplo a impregnação do material com substâncias antimicrobianas, que podem modificar a forma como os microrganismos interagem na superfície de dispositivos. Formulações antifúngicas contendo polímeros que formam barreiras para os biofilmes, têm sido usadas para que aumente o tempo de contato com o antifúngico [8]. Além disso, o desenvolvimento de revestimentos finos que podem ser aplicados a dispositivos médicos para conferir resistência à colonização tem sido de muito interesse. Esses revestimentos são projetados para prevenir o estabelecimento de biofilmes infecciosos, sem afetar as propriedades do material e o hospedeiro [20].

Atualmente, os agentes antifúngicos utilizados no tratamento de infecções sistêmicas consistem principalmente nos polienos, sendo a anfotericina B mais comum, azóis como fluconazol e voriconazol, e equinocandinas como caspofungina e micafungina, além de flucitosina, um antimetabólico [26, 27, 32]. A anfotericina B é um potente antifúngico que é normalmente utilizada em casos graves, ou em associação com flucitosina. Mesmo assim, sua utilização é cautelosa devido aos diversos efeitos colaterais e nefrotoxicidade, além da biodisponibilidade oral limitada. Os azóis são amplamente utilizados como antifúngicos de primeira linha, porém apresentam a desvantagem de ter um espectro de ação menor, além da toxicidade hepática. As equinocandinas possuem atividade fungicida e boa seletividade. Entretanto, esses medicamentos não podem ser administrados por via oral devido à estrutura lipofílica no ambiente gástrico [26].

A resistência de *Candida* spp. pode ser intrínseca ou adquirida [10]. A resistência intrínseca é atribuída ao fenótipo de todos os isolados de uma mesma espécie, como por exemplo, fluconazol em *C. krusei*. Já a resistência adquirida, é atribuída quando um isolado que normalmente tem susceptibilidade a um antifúngico, torna-se resistente por algum motivo, como por exemplo a alteração da expressão gênica [10,11].

Os mecanismos de resistência a antifúngicos variam entre as espécies e geralmente envolvem a diminuição da afinidade ao alvo e modificação do mesmo, a diminuição da concentração intracelular por aumento de efluxo do medicamento, além de mutações genéticas [10,26, 32]. Estudos relatam uma incidência crescente de infecções causadas por leveduras que adquiriram resistência ou são intrinsecamente resistentes ao medicamento em uso, o que é alarmante, pois as opções de antifúngicos são limitadas e o surgimento da resistência limita severamente as opções farmoterapêuticas [32]. As espécies de *Candida* não-

albicans são mais propensas à resistência a antifúngicos com alto potencial de causar surtos em diferentes lugares do mundo.

Quando relacionada à produção de biofilmes, o problema torna-se ainda maior, pois diferentes espécies de biofilmes de *Candida* spp. podem resultar em altos níveis de resistência aos agentes antifúngicos. Células maduras de biofilmes possuem capacidade de sobreviver com baixos níveis de esterol, e elevados níveis de enzimas biossintéticas, o que pode contribuir para a resistência aos azóis e aos polienos, por exemplo [26,27,28]. A resistência a antifúngicos pode ser quase 1.000 vezes maior para células de biofilme de *Candida* spp. do que para células na forma planctônica. Além disso, a presença do polissacarídeo β -1,3-glucano da matriz tem sido fortemente ligada ao mecanismo de impermeabilidade causado por biofilmes, pois estes prendem a substância impedindo sua ação. A interrupção deste processo por modulação genética ou química pode diminuir o sequestro de substâncias na matriz, tornando os biofilmes mais suscetíveis a agentes antifúngicos [32, 33]. Medidas que buscam interferir na formação ou manutenção dos biofilmes, também se fazem necessárias para torná-los susceptíveis, além do conhecimento das suas características [8]. Diferentes características na estrutura da matriz dos biofilmes, podem definir diferentes atividades metabólicas.

Na tabela 1 pode-se observar algumas características estruturais das principais espécies de *Candida* spp. e resistências já observados em biofilmes dessas espécies. Muitos estudos sobre as estruturas dos diferentes biofilmes de espécies de *Candida* spp. e suas composições estão sendo feitos, e os mecanismos que estão envolvidos na tolerância antifúngica de biofilmes são pouco definidos, sendo muito importante o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas antifúngicas [34, 38].

No contexto de resistência que presenciamos atualmente, é essencial a avaliação de agentes antifúngicos tanto novos como os já utilizados no combate aos biofilmes, pois sabe-se que a formação de biofilmes é um mecanismo universal que afeta a ação de todas as classes de antifúngicos, além de atualmente não existir medicamentos específicos aprovados no tratamento de biofilmes [2, 8, 32].

As características únicas de desenvolvimento dos biofilmes geram uma grande dificuldade no tratamento.

TABELA 1 – Características dos Biofilmes de espécies de *Candida*

ESPÉCIE	RESISTÊNCIA	CARACTERÍSTICAS DO BIOFILME	REFERÊNCIA / AUTOR
<i>C. albicans</i>	Fluconazol, Voriconazol, Anfotericina B, Nistatina, Clorexidina, Terbinafina	Possui a capacidade de mudar sua morfologia para hifas e pseudo-hifas. A formação do seu biofilme costuma ser mais rápida quando comparada a outras espécies.	21, 28
<i>C. glabrata</i>	Fluconazol, Nistatina, Caspofungina, Anfotericina B, Flucitosina	Possui estrutura com espessa camada, ou em aglomerados de células que incorporam uma matriz extracelular. Pode ligar-se sinergicamente às pseudo-hifas de <i>C. albicans</i> na invasão de tecidos. Possui alta atividade metabólica.	34, 38
<i>C. parapsilosis</i> (<i>C. orthopsilosis</i> e <i>C. metapsilosis</i>)	Anfotericina B, Nistatina, Fluconazol, Clorexidina, Terbinafina	Biofilmes são formados por células leveduriformes agrupadas irregularmente. Possui menor produção de matriz extracelular com menor teor de proteínas. As células com alta capacidade de formação de biofilmes podem formar pseudo-hifas. Possui uma capacidade moderada de formação de biomassa e atividade metabólica.	36, 40
<i>C. tropicalis</i>	Fluconazol, Anfotericina B	Possui uma estrutura composta principalmente por células leveduriformes, embora possa apresentar cepas filamentosas em camadas espessas do biofilme. Possui células coagregadas ou irregulares, ancoradas à superfície, além da matriz extracelular com baixo teor de	9

		proteína e carboidratos e uma atividade metabólica baixa.	
<i>C. krusei</i>	Fluconazol, Caspofungina, Micafungina, Anfotericina B	Possui uma estrutura com camada de células leveduriformes simples, únicas e aglomeradas circundadas pela matriz extracelular. Seu biofilme exhibe um processo mais lento de formação. Possui baixa capacidade de formação de biomassa e atividade metabólica moderada.	38, 39
<i>C. auris</i>	Anfotericina B, Micafungina, Clorexidina, Fluconazol	Apresentam-se em fenótipo agregativo, e em células isoladas, demonstrando ter uma maior virulência na sua forma isolada, além de maior capacidade de formação do biofilme. Possui alta expressão genética envolvidas na adesão e na formação da matriz extracelular, que confere uma resistência e sobrevivência do biofilme.	37,41

3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

O entendimento da atual prevalência das candidemias é de extrema importância na área da micologia médica e o aumento desta está cada vez mais presente no âmbito hospitalar, principalmente envolvendo espécies de *Candida* não-albicans. Este aumento, é uma causa importante de morbidade e mortalidade hospitalar em todo o mundo. Biofilmes desenvolvem um papel fundamental na persistência dessas infecções, principalmente quando relacionados a sua capacidade de adesão a dispositivos médicos e à colonização. A diferenciação das espécies responsáveis pela adesão dos biofilmes às superfícies, representa um fator fundamental no tratamento e a erradicação destes. Isso ressalta a necessidade de encontrar novas maneiras clinicamente relevantes para prevenir e tratar essas infecções, como por exemplo, estratégias para o controle da formação de biofilmes. O revestimento de materiais, bem como impregnação com substâncias antifúngicas que atuam nos biofilmes parecem beneficiar a utilização do cateter, que muitas vezes é essencial durante a internação do paciente. Além disso, a dificuldade no tratamento de infecções causadas por biofilmes demonstra um aumento na resistência a antifúngicos, fazendo-se necessário o estudo de novas formulações e combinações. O entendimento das estruturas dos biofilmes e seus mecanismos de resistência e adaptação permite o estudo de novas perspectivas de medicamentos, como por exemplo, substâncias que atuam na matriz de β -1,3-glucono. Assim, é necessário enfatizar a pesquisa de novas substâncias com habilidades antifúngicas eficazes, pois os efeitos colaterais adversos de medicamentos já existentes são grandes, além do aumento do surgimento de cepas resistentes aos antifúngicos convencionais, restringindo as opções de tratamento.

REFERÊNCIAS

1. Epelbaum O, Chasan R. Candidemia in the Intensive Care Unit. *Clinics in Chest Medicine*. 2017 Set; 38: 493-509.
2. Pippi B, Machado GRM, Bergamo VZ, Alves RJ, Andrade SF, Fuentefria AM. Clioquinol is a promising preventive morphological switching compound in the treatment of Candida infections linked to the use of intrauterine devices. *Journal of Medical Microbiology*. 2018 Nov; 67:1655–1663.
3. Coutinho HDM. Factors influencing the virulence of Candida spp. *West Indian Medical Journal*. 2009 Mar; 58:160-163.
4. Rajendran R, Sherry L, Nile, CJ, Sherriff A, Johnson EM, Hanson, MF, et al. Biofilm formation is a risk factor for mortality in patients with Candida albicans bloodstream infection-Scotland, 2012-2013. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016 Jan; 22:87-93.
5. Silva S, Rodrigues CF, Araújo D, Rodrigues ME, e Henriques M. Candida species biofilms' antifungal resistance. *Journal of Fungi*. 2017 Fev; 3: E8.
6. Perlin DS, Rautemaa-Richardson R, Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *Lancet Infectious Diseases*. 2017 Jul; 17: e383–92
7. Svetlichny G et al. Assessing the performance of copaiba oil and allantoin nanoparticles on multidrug-resistant Candida parapsilosis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2017 Mai; 40: 59-65.
8. Reginatto P, Bergamo VZ, Berlitz SJ et al. Rational selection of antifungal drugs to propose a new formulation strategy to control Candida biofilm formation on venous catheters. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2020 Sep;51(3):1037-1049.

9. Cavalheiro M, Teixeira MC. Candida Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Front Med (Lausanne)*. 2018 Fev; 5: 28.
10. Fuentefria AM, Pippi B, Dalla Lana DF, Donato KK, de Andrade SF. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. *Lett Appl Microbiol*. 2018 Nov;66(1):2-13.
11. Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ. Invasive candidiasis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 May; 4: 18026.
12. Berman J, Krysan DJ. Drug resistance and tolerance in fungi. *Nat Rev Microbiol*. 2020 Fev;18(6):319-331
13. Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. *N Engl J Med*. 2015 Out;373(15):1445-1456.
14. Bernard C, Girardot M, Imbert C. Candida albicans interaction with Gram-positive bacteria within interkingdom biofilms. *J Mycol Med*. 2020 Nov;30(1):100909.
15. Bell T, O'Grady NP. Prevention of Central Line-Associated Bloodstream Infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2017;31(3):551-559.
16. Mermel LA, Allon M, Bouza E, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2010 Abr;50(7):1079.
17. Colombo AL, Guimarães T, Camargo LF, Richtmann R, Queiroz-Telles Fd, Salles MJ, Cunha CA, Yasuda MA, Moretti ML, Nucci M. Brazilian guidelines for the management of candidiasis - a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. *Braz J Infect Dis*. 2013 May-Jun;17(3):283-312.

18. Mohr A, Simon M, Joha T, Hanses F, Salzberger B, Hitzenbichler F. Epidemiology of candidemia and impact of infectious disease consultation on survival and care. *Infection*. 2020 Feb;48(2):275-284.
19. Nett JE, R Andes D. Fungal Biofilms: In Vivo Models for Discovery of Anti-Biofilm Drugs. *Microbiol Spectr*. 2015 Jun;3(3):E30
20. Giles C, Lamont-Friedrich SJ, Michl TD, Griesser HJ, Coad BR. The importance of fungal pathogens and antifungal coatings in medical device infections. *Biotechnol Adv*. 2018 Jan-Feb;36(1):264-280.
21. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*. 2010 Ago;8(9):623-633.
22. Iñigo M, Pemán J, Del Pozo JL. Antifungal activity against Candida biofilms. *Int J Artif Organs*. 2012 Jul;35(10):780-791.
23. Chandra J, Long L, Ghannoum MA, Mukherjee PK. A rabbit model for evaluation of catheter-associated fungal biofilms. *Virulence*. 2011 Set;2(5):466-474.
24. Oliveira LT, Lopes LG, Ramos SB, Martins CHG, Jamur MC, Pires RH. Fungal biofilms in the hemodialysis environment. *Microb Pathog*. 2018 Jul; 123: 206-212.
25. Nobile CJ, Johnson AD. Candida albicans Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol*. 2015 Jul; 69: 71–92.
26. Wu S, Wang Y, Liu N, Dong G, Sheng C. Tackling Fungal Resistance by Biofilm Inhibitors. *J Med Chem*. 2017 Jan;60(6):2193-2211.
27. Ibrahim F, Gershkovich P, Sivak O, Wasan EK, Bartlett K, Wasan KM. Efficacy and toxicity of a tropically stable lipid-based formulation of amphotericin B (iCo-010) in a rat model of invasive candidiasis. *Int J Pharm*. 2012 Jul;436(1-2):318-323.

28. Finkel JS, Mitchell AP. Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nat Rev Microbiol*. 2011 Jan;9(2):109-118.
29. De Carolis E, Soldini S, La Rosa M, Nucci F, Posteraro B, Sanguinetti M. BIOF-HILO Assay: A New MALDI-TOF Mass Spectrometry Based Method for Discriminating Between High- and Low-Biofilm-Producing *Candida parapsilosis* Isolates. *Front Microbiol*. 2019 Ago; 10:2046.
30. Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Fev; 20 Suppl 6:5-10.
31. Lockhart SR, Iqbal N, Cleveland AA, Farley MM, Harrison LH, Bolden CB, et al. Species identification and antifungal susceptibility testing of *Candida* bloodstream isolates from population-based surveillance studies in two U.S. cities from 2008 to 2011. *J Clin Microbiol*. 2012 Nov;50(11):3435–42.
32. Perlin DS, Rautemaa-Richardson R, Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *Lancet Infect Dis*. 2017 Jul;17(12):e383-e392.
33. Mitchell KF, Taff HT, Cuevas MA, Reinicke EL, Sanchez H, Andes DR. Role of matrix β -1,3 glucan in antifungal resistance of non-*albicans* *Candida* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(4):1918-1920.
34. d'Enfert C, Janbon G. Biofilm formation in *Candida glabrata*: What have we learnt from functional genomics approaches?. *FEMS Yeast Res*. 2016 Fev;16(1):fov111.
35. Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJS. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol*. 2013 Jan;62(Pt 1):10-24.

36. Lattif AA, Mukherjee PK, Chandra J, et al. Characterization of biofilms formed by *Candida parapsilosis*, *C. metapsilosis*, and *C. orthopsilosis*. *Int J Med Microbiol*. 2010 Abr;300(4):265-270.
37. Singh R, Kaur M, Chakrabarti A, Shankarnarayan SA, Rudramurthy SM. Biofilm formation by *Candida auris* isolated from colonising sites and candidemia cases. *Mycoses*. 2019 Ago;62(8):706-709.
38. Marcos-Zambrano LJ, Escribano P, Bouza E, Guinea J. Production of biofilm by *Candida* and non-*Candida* spp. isolates causing fungemia: comparison of biomass production and metabolic activity and development of cut-off points. *Int J Med Microbiol*. 2014 Set;304(8):1192-1198.
39. Budjáková H. Management of *Candida* biofilms: state of knowledge and new options for prevention and eradication. *Future Microbiol*. 2016 Fev;11(2):235-251.
40. Neji S, Hadrich I, Trabelsi H, et al. Virulence factors, antifungal susceptibility and molecular mechanisms of azole resistance among *Candida parapsilosis* complex isolates recovered from clinical specimens. *J Biomed Sci*. 2017 Set;24(1):67.
41. Kean R, Ramage G. Combined Antifungal Resistance and Biofilm Tolerance: the Global Threat of *Candida auris*. *mSphere*. 2019 Jul;4(4):e00458-19.
42. da Matta DA, Souza ACR, Colombo AL. Revisiting Species Distribution and Antifungal Susceptibility of *Candida* Bloodstream Isolates from Latin American Medical Centers. *J Fungi (Basel)*. 2017 Mai;3(2):24.
43. Hankovszky P, Társy D, Öveges N, Molnár Z. Invasive *Candida* Infections in the ICU: Diagnosis and Therapy. *J Crit Care Med (Targu Mures)*. 2015 Nov 10;1(4):129-139.
44. Bassetti M, Merelli M, Righi E, Diaz-Martin A, Rosello EM, Luzzati R, et al. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility, and outcome of candidemia across five sites in Italy and Spain. *J Clin Microbiol*. 2013 Dec;51(12):4167-72.

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA “CLINICAL & BIOMEDICAL RESEARCH – HCPA”

TIPOS DE COLABORAÇÃO

Editoriais

Esta seção inclui o editorial de apresentação da Revista, assinado pelo Editor, além de editoriais especiais, que compreendem colaborações solicitadas sobre temas atuais ou artigos publicados na Revista.

Artigos originais

São contribuições novas ao campo de conhecimento, apresentadas de forma a possibilitar a avaliação crítica e global e a replicação por outros investigadores. Os artigos originais podem descrever trabalhos observacionais ou experimentais, prospectivos ou retrospectivos, descritivos ou analíticos. Os artigos submetidos nesta categoria não devem exceder 3.000 palavras, com um total de 5 figuras ou tabelas e, no máximo, 40 referências.

Artigos especiais e de revisão

Esses artigos serão solicitados pelo Conselho Editorial e versarão sobre temas atuais ou de interesse permanente, abrangendo políticas de saúde, ensino, pesquisa, extensão universitária e exercício profissional. Também serão considerados nesta categoria artigos clínicos que expressem experiência de grupos ou opinião pessoal de relevância e profundidade, além de artigos de atualização sobre as mais variadas áreas abrangidas pela linha de divulgação científica e tecnológica da Revista. Os artigos especiais não devem ter mais de 3.000 palavras, com um total de 5 figuras ou tabelas e, no máximo, 40 referências.

Imagens diagnósticas

Imagens elucidativas de situações médicas, com 2 a 3 imagens (mínimo de 300 dpi), acompanhadas de um texto de, no máximo, 20 linhas.

Relatos de casos

Os relatos de casos devem descrever achados novos ou pouco usuais, ou oferecer novas percepções sobre um problema estabelecido. O conteúdo deve se limitar a fatos pertinentes aos casos. Relatos de um caso único não devem exceder 2.000 palavras, com um total de 3 tabelas ou figuras e, no máximo, 25 referências, já que o objetivo dos relatos não é apresentar uma revisão bibliográfica.

Cartas ao Editor

Correspondência dirigida ao Editor sobre artigos previamente publicados ou sobre temas de interesse relacionados à linha editorial da Revista. A Revista HCPA adota o estilo Vancouver, elaborado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas – ICMJE <http://www.icmje.org/>. Detalhes sobre o estilo Vancouver são descritos mais adiante.

SUBMISSÃO DE ARTIGOS

Os autores deverão submeter on-line no endereço: <http://www.seer.ufrgs.br/index.php/HCPA/ojs/>. A Revista aceitará para avaliação artigos em português, inglês ou espanhol. Todos os artigos serão avaliados por dois revisores. Quando os revisores sugerirem modificações, os artigos serão reavaliados.

DIREITOS AUTORAIS

Os autores cederão à Revista HCPA os direitos autorais das colaborações aceitas para publicação. Os autores poderão utilizar os mesmos resultados em outras publicações desde que indiquem claramente a Revista como o local da publicação original. As colaborações submetidas à Revista HCPA devem incluir uma página de rosto contendo as seguintes informações: TÍTULO da colaboração, em português e em inglês (ou em espanhol e em inglês). NOME completo dos autores, seguidos de credenciais e instituição a qual pertencem. Correio eletrônico do autor de contato. Até CINCO unitermos com tradução para o inglês.

RESUMO

Os artigos originais devem conter obrigatoriamente um resumo estruturado, de até 250 palavras, com tradução para o inglês. Portanto, o resumo deve explicitar os objetivos, métodos, resultados e conclusões e deve dar ao leitor uma descrição exata do conteúdo do artigo. Os artigos de revisão e outras colaborações deverão apresentar resumos descritivos dos conteúdos abordados, de até 200 palavras, com tradução para o inglês. Relatos de caso deverão apresentar resumos de até 100 palavras, com tradução para inglês.

CORPO DO ARTIGO

Os artigos originais devem seguir o formato “IMRAD”, ou seja, Introdução, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão (e, opcionalmente, Conclusões). A introdução deve incluir o objetivo do trabalho, sua importância, a revisão da literatura pertinente e o desenvolvimento do assunto. A seção de Materiais e Métodos deve descrever as técnicas, estatísticas e outras formas de análise empregadas, de forma que seja possível a outros autores a repetição do experimento descrito. Os Resultados devem apresentar simplesmente, sem avaliações, os dados obtidos a partir dos experimentos descritos em Materiais e Métodos. Na Discussão, os autores comentarão os resultados e sua relação com dados da literatura revisada e delinearão suas conclusões (a não ser em artigos em que as conclusões são apresentadas separadamente).

Os aspectos novos e originais Apresentados pelo artigo devem ser enfatizados. Os dados apresentados em sessões anteriores, como Introdução ou Resultados, não devem ser repetidos em detalhe na Discussão.

AGRADECIMENTOS

Uma nota de agradecimentos deve ser incluída no final do texto sempre que relevante, por exemplo, no caso de financiamento por alguma instituição específica. Pessoas que contribuíram para a pesquisa e para o artigo, mas cuja contribuição não justifica inclusão na lista de autores, devem ser mencionadas nesta seção.

REFERÊNCIAS

As referências bibliográficas devem ser usadas para identificar a fonte de conceitos, métodos e técnicas derivadas de pesquisas, estudos ou experiências anteriores já publicadas; para embasar fatos e opiniões expressadas pelos autores; e para servir como guia para os leitores interessados em conhecer mais sobre pontos específicos descritos no artigo. As referências devem ser listadas de acordo com a ordem de citação no texto. Dentro do texto, as citações deverão ser indicadas entre parênteses: “Vários autores (1,4,7) observaram...”. As referências que aparecem pela primeira vez em tabelas e figuras devem ser numeradas na sequência das referências citadas na parte do texto onde a tabela ou a figura aparecem pela primeira vez. A seguir serão exemplificados os formatos para os diversos tipos de citação.

Artigos de periódicos

Artigo padrão

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med.* 1996;124:76-9.

Se o artigo tiver mais de seis autores, os seis primeiros nomes serão listados, seguidos de “et al.”: Bellone A, Monari A, Cortellaro F, Vettorello M, Arlati S, Coen D, et al. Myocardial infarction rate in acute pulmonary edema: Noninvasive pressure support ventilation versus continuous positive airway pressure. *Crit Care Med.* 2004;32(9):11-9.

Organização como autor do artigo

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance. *Med J Aust* 1996;164:282-4.

Artigos sem autor

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

Volume com suplemento

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994;102 Suppl 1:27-9.

Número com suplemento

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23(1 Suppl 2):89-97.

Cartas ou outros tipos especiais de artigos

Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996;347:1337.

Livros e outras monografias***Autor pessoal***

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

Editor ou compiladores como autor

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

Capítulo de livro

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

Anais de congresso

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

Artigo apresentado em congresso

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

Tese ou dissertação

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

Outros tipos de materiais***Artigos de jornal***

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. *The Washington Post* 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col 5).

Audiovisuais

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassete]. St Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

Artigos ou livros no prelo

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med. No prelo 1996.

Material eletrônico

Artigo de periódico em formato eletrônico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [série online] 1995 Jan-Mar [citado 1996 Jun 5]; 1(1):[24 telas]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Monografia eletrônica

CDI, clinical dermatology illustrated [monografia em CDROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

Tabelas

As tabelas, quadros e figuras devem ser apresentados junto ao texto. Abreviaturas utilizadas devem ser explicadas.

Abreviaturas

O uso de abreviaturas deve ser mínimo, porém, sempre que utilizadas, as abreviaturas devem ser introduzidas imediatamente depois do termo a ser abreviado quando este aparecer pela primeira vez no texto. O título não deve conter abreviaturas.

Experiências com seres humanos e animais

Trabalhos submetidos para avaliação pelo Conselho Editorial da Revista HCPA devem seguir os princípios relativos a experimentos com seres humanos e animais delineados nos seguintes documentos: Declaration of Helsinki; e Guiding Principles in the Care and Use of Animals (DHEW Publication, NIH, 80-23). Além destes documentos internacionais, deverão ser seguidas as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e complementares) e as resoluções normativas sobre pesquisa do HCPA. A compilação destas normas foi baseada em: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Can Med Assoc J 1997;156(2):270-7.

PÁGINA DE ROSTO

Título em português e inglês; Nome completo dos autores, seguidos de credenciais e instituição a que pertencem; correio eletrônico do autor de contato.

CORPO DO ARTIGO

Resumos em português e inglês; Unitermos em português e Keywords em inglês; Tabelas numeradas com números arábicos. Todas as abreviaturas explicadas em notas no final das

tabelas; Figuras numeradas com números arábicos; O texto inclui todas as divisões principais: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão (e, opcionalmente, Conclusões); Nenhuma abreviatura está sendo utilizada no título; No texto, termos abreviados são escritos por extenso na primeira vez em que aparecem seguidos da abreviatura entre parênteses. As mesmas abreviaturas são usadas consistentemente em todo o texto, tabelas e figuras; Pacientes são identificados por números, não por iniciais.

REFERÊNCIAS

Todas as referências são indicadas no texto em números arábicos, na ordem em que aparecem, entre parênteses; as referências foram conferidas e formatadas cuidadosamente. Os títulos de periódicos foram abreviados conforme o Index Medicus; O nome de todos os autores foi listado em cada uma das referências. Quando há mais de seis autores, os seis primeiros nomes foram citados, seguidos de *et al.*

FORMATO GERAL

O artigo está digitado em espaço simples, em folhas de tamanho A4 (21 x 29,7 cm), com margens de 2 cm, fonte Times New Roman tamanho 11.