

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

Fernanda Ribeiro Vidal

**IMPACTO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME POR *Staphylococcus aureus*
RESISTENTE À METICILINA NA ÁREA DA SAÚDE HUMANA**

Porto Alegre

2020

Fernanda Ribeiro Vidal

**IMPACTO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME POR *Staphylococcus aureus*
RESISTENTE À METICILINA NA ÁREA DA SAÚDE HUMANA**

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. Dra. Gertrudes Corção

Porto Alegre

2020

Vidal, Fernanda Ribeiro

Impacto da formação de biofilme por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na área da saúde humana / Fernanda Ribeiro Vidal. -- 2020.

55 f.

Orientador: Gertrudes Corção.

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. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. 2. biofilme. 3. meio ambiente. 4. terapêutica. I. Corção, Gertrudes, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

À minha família e amigos por acreditarem em mim e me apoiarem em todos os momentos.

A professora orientadora Gertrudes Corção pela paciência e por compartilhar seus conhecimentos e experiências contribuindo no meu desenvolvimento intelectual e profissional.

A Professora bibliotecária Dirce Maria Santin, que me acompanhou e me deu todo auxílio necessário para viabilizar a realização desta pesquisa.

A turma do Curso de Microbiologia Clínica pela troca de experiências, contribuindo para meu desenvolvimento intelectual e profissional.

A Universidade Federal Rio Grande do Sul (UFRGS), através da coordenação do Curso de Especialização Microbiologia Clínica.

RESUMO

O artigo propõe-se a discutir sobre a resistência do *Staphylococcus aureus* à meticilina (MRSA) e a capacidade de formação de biofilme nos serviços de saúde, na comunidade e na cadeia de produção de alimentos e o quanto isto pode impactar nos índices de morbimortalidade se tornado um grave problema de saúde pública. O estudo tem por objetivo fazer uma revisão bibliográfica de caráter qualitativo e exploratório para identificar os ambientes de formação de biofilme por MRSA, medidas de prevenção, controle da transmissão e novas estratégias de tratamento. O artigo aponta para a capacidade que o MRSA tem de formar biofilmes em várias superfícies como: dispositivos de implantes, tecidos humanos ou superfícies inertes e a necessidade de adotar medidas preventivas como: uso racional de antimicrobianos; monitoramento e isolamento de pacientes de alto risco; e métodos de higienização pessoal e ambiental. Destaca a necessidade de novas opções terapêuticas para combater a formação e as infecções associadas ao biofilme de MRSA como: chalconas, bacteriocinas, andaime eletrônico de peróxido de hidrogênio, bacteriófagos e as endolisinas. Em última análise, estamos longe de encontrar uma solução para este problema, mas um esforço conjunto de governantes, profissionais da saúde e comunidade pode ajudar a amenizar a situação.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina; Biofilme; Meio Ambiente; Terapêutica.

ABSTRACT

The article aims to discuss about the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and the capacity of biofilm formation in health services, in the community and in the food production chain and how much this can impact on morbidity and mortality rates if it becomes a serious public health problem. The study aims to conduct a qualitative and exploratory bibliographic review to identify environments of MRSA biofilm formation, prevention measures, transmission control and new treatment strategies. The article points to the MRSA's ability to form biofilms on various surfaces, such as: implant devices, human tissues or inert surfaces and the need to adopt preventive measures, such as: rational use of antimicrobials; monitoring and isolating high-risk patients; and methods of personal and environmental hygiene. It Highlights the need for new therapeutic options to combat the formation and infections associated with MRSA biofilm, such as: chalcones, bacteriocins, electronic scaffolding of hydrogen peroxide, bacteriophages and endolysins. Summing up, we are far from finding a solution to this problem, but a joint effort by government officials, health professionals and the community could help to alleviate the situation.

Keywords: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; Biofilm; Environment; Therapeutics.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
1.1 OBJETIVOS	10
1.1.1 Objetivo geral	10
1.1.2 Objetivos específicos	10
2 ARTIGO CIENTÍFICO.....	11
3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	38
REFERÊNCIAS	39
ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ	43

1 INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus são microrganismos que se encontram naturalmente presentes em cerca de um terço da população, fazendo parte da microbiota humana normal. São principalmente encontrados colonizando a pele e a cavidade nasal (Monteiro Sales and da Silva 2012), podendo tornar-se patogênicos em condições como a quebra da barreira cutânea ou diminuição da imunidade (Gelatti and Becker 2009). Nestas circunstâncias, pode causar uma variedade de processos infecciosos, desde infecções cutâneas até doenças sistêmicas potencialmente fatais (Winn Jr. et al. 2008).

As infecções por *S. aureus* tornaram-se mais difíceis de tratar, nos últimos anos, devido ao uso indiscriminado de antibióticos e ao aumento da prevalência de resistência antimicrobiana (Piechota et al. 2018). Os mecanismos pelos quais o *S. aureus* pode desenvolver resistência são: bomba de efluxo, inativação de aminoglicosídeos e modificação nas proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs). Os *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) são cepas resistentes a todos os antimicrobianos β -lactâmicos, por alteração na proteína 2 de ligação à penicilina (PBP-2) (Monteiro Sales and da Silva 2012).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a resistência aos antibióticos é um complexo desafio global à saúde pública, exigindo mais do que uma única estratégia para enfrentá-lo. O uso desnecessário de antimicrobianos, a escolha inadequada de antibióticos e, talvez, o uso do medicamento durante um longo período de tempo devido à ineficácia, pode levar a um aumento das taxas de resistência (Luna et al. 2010). De acordo com o relatório, "Resistência antimicrobiana: relatório global sobre vigilância", estima-se que os indivíduos com MRSA tenham 64% mais probabilidade de morrer do que os indivíduos com uma forma não resistente da infecção (Yewale 2014), representando um desafio para praticamente todas as instituições de saúde (Winn Jr. et al. 2008) e um importante problema clínico e de saúde pública (Alvarez et al. 2010).

A epidemiologia do MRSA que, tradicionalmente, estava limitada aos hospitais, mudou nos últimos anos, devido à rápida emergência e ao aumento na prevalência de infecções causadas por MRSA na comunidade (CA-MRSA), causando infecções graves em pessoas saudáveis, não expostas aos fatores de risco habituais (Gelatti and Becker 2009; Evangelista and de Oliveira 2015).

As cepas de CA-MRSA têm características genéticas e fenotípicas diferentes das apresentadas pelas hospitalares (HA-MRSA) (Evangelista and Oliveira 2015). As cepas HA-

MRSA carregam o elemento genético móvel denominado cassete cromossômico estafilocócico mec (SCCmec) dos tipos I, II e III e o CA-MRSA carrega, preferencialmente, o SCCmec do tipo IV, e eventualmente, o do tipo V. Esse tipo de cassete cromossômico é menor que os outros tipos e não possui genes acoplados que codificam resistência a outros antimicrobianos não β -lactâmicos. Assim, de forma geral, o CA-MRSA é susceptível à maioria dos antimicrobianos não β -lactâmicos (Naimi et al. 2003).

Entre os vários fatores de virulência do MRSA, os mais importantes são a adesão de bactérias ao tecido do hospedeiro e a formação de biofilmes, em infecções prolongadas e recorrentes, tornando essas infecções um sério problema clínico e terapêutico (Bozic et al. 2014).

Um biofilme é uma comunidade de microrganismos que adere as superfícies bióticas e abióticas (Okuda et al. 2013). Na natureza, os microrganismos estão frequentemente organizados em biofilmes, que são comunidades complexas e aderentes de muitos microrganismos. As bactérias nos biofilmes estão protegidas da ação dos antibióticos e a determinados tipos de mecanismos de defesa do hospedeiro. Cepas diferentes de *S. aureus* podem conter diferentes adesinas ou toxinas ou podem diferir em sua capacidade de produzir biofilmes e resistir à fagocitose (Gordon and Lowy 2008). Estima-se que até 60% das infecções humanas sejam devido aos biofilmes (Engelkirk and Engelkirk 2012). As infecções associadas ao biofilme são frequentemente crônicas ou recidivantes; portanto, é importante a prevenção e o tratamento bem-sucedido dessas infecções (Okuda et al. 2013).

A capacidade de *S. aureus* fixar na superfície de um corpo estranho e desenvolver biofilme é um importante determinante da resistência à profilaxia com antibióticos (Lauderdale et al. 2010). Antibióticos de último recurso, como a vancomicina, são em grande parte ineficazes contra cepas persistentes de *S. aureus* e em estado de biofilmes, sendo necessário a pesquisa de agentes antibacterianos alternativos que tenham atividade bactericida contra células replicantes, persistentes e em biofilmes estabelecidos (Zhang et al. 2019). A resistência associada ao biofilme é um desafio na prática clínica; portanto, também são necessárias novas abordagens direcionadas ao biofilme sem antibióticos para tratar infecções bacterianas associadas ao biofilme, incluindo aquelas causadas por bactérias resistentes a medicamentos, como o MRSA (Doulgeraki et al. 2017; Raval et al. 2019).

As características da superfície e as cepas de MRSA influenciam na formação do biofilme. A maioria dos produtores de biofilme de MRSA transporta SCC mec tipo IVa, sugerindo que a presença de SCC mec IVa e/ou tipo III pode estar relacionado à capacidade de formar biofilme (Vergara et al. 2017).

É importante ressaltar que MRSA pode permanecer viável em várias superfícies por semanas e até meses (Neely and Maley 2000), aumentando assim o risco de transmissão e se tornado um problema ambiental, epidemiologicamente importante na gênese de infecções hospitalares (Ferreira et al. 2011). A proporção de superfícies hospitalares contaminadas com MRSA tem variado consideravelmente de 1% a 27% em quartos hospitalares a 64% de superfícies em Unidades de Queimados com pacientes portando MRSA (Boyce 2007).

A formação de biofilme pelas cepas de MRSA indica alta capacidade de persistência dessa cepa no ambiente hospitalar, o que aumenta o risco de desenvolvimento de doenças em pacientes hospitalizados, difíceis de serem tratados, causando um impacto negativo significativo na saúde do paciente (Piechota et al. 2018). Considera-se que os biofilmes contribuem para mais de 80% de todas as infecções em seres humanos (Davies 2003).

A capacidade de produzir biofilme é um importante mecanismo de persistência e disseminação de algumas bactérias de origem alimentar. O MRSA tem capacidade de produzir biofilme sobre materiais normalmente utilizados em equipamentos de processamento de alimentos e já foi isolado a partir de vários alimentos de origem animal, dando motivo de preocupação sobre a possível disseminação em toda a cadeia de produção alimentar (Vergara et al. 2017).

A resistência à metilina e a capacidade de formação de biofilme nos serviços de saúde, na comunidade e na cadeia de produção de alimentos podem contribuir para o aumento dos índices de morbimortalidade, principalmente pela dificuldade encontrada no tratamento, podendo trazer impactos reais e potenciais à saúde humana. As infecções por MRSA, além de serem um desafio na prática clínica, são também um problema de saúde pública. Portanto, torna-se evidente a importância do conhecimento científico a respeito deste assunto através de uma revisão bibliográfica do tema, visto que existe a necessidade de instituição de medidas eficazes a nível mundial, para prevenção e controle da transmissão do MRSA, tanto nos serviços de saúde e hospitais quanto na comunidade. Além disso, são necessárias novas opções terapêuticas para combater a disseminação de infecções difíceis de tratar, por *S. aureus*, resistentes a medicamentos e associadas à formação de biofilme.

Esta revisão bibliográfica procura reunir dados e informações da literatura científica para identificar os ambientes de formação de biofilme por MRSA e analisar seu impacto sobre a saúde humana, além de identificar medidas de prevenção, controle e tratamento.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Este estudo tem por objetivo fazer uma revisão da literatura científica para investigar a presença MRSA na formação de biofilme nos mais variados ambientes e medidas de prevenção, controle e tratamento.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Identificar os ambientes de formação de biofilme por MRSA;
- b) Analisar o impacto da formação de biofilme por MRSA sobre a saúde humana;
- c) Identificar novos tratamentos para infecções causadas por MRSA e métodos de desinfecção de superfícies para a eliminação dos biofilmes.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

Impacto da formação de biofilme por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na área da
saúde humana

Impact of biofilm formation by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in human
healthcare

Fernanda Ribeiro VIDAL; Gertrudes CORÇÃO*

* CORCAO@Ufrgs.br

Rua Sarmiento Leite, 500 - Porto Alegre - RS - Brasil.

Telefone: (51) 3308-3452

Curso de Especialização *Lato Sensu* em Microbiologia Clínica; Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia; Instituto de Ciências Básica em Saúde (ICBS); Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Conflito de interesse: Esta pesquisa não recebeu nenhum subsídio específico de agências de fomento nos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

Nota de apresentação: Fernanda Ribeiro Vidal. Impacto da formação de biofilme por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na área da saúde humana. 2020. Curso de especialização em microbiologia clínica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Resumo:

O artigo propõe-se a discutir sobre a resistência do *Staphylococcus aureus* à meticilina (MRSA) e a capacidade de formação de biofilme nos serviços de saúde, na comunidade e na cadeia de produção de alimentos e o quanto isto pode impactar nos índices de morbimortalidade se tornado um grave problema de saúde pública. O estudo tem por objetivo fazer uma revisão bibliográfica de caráter qualitativo e exploratório para identificar os ambientes de formação de biofilme por MRSA, medidas de prevenção, controle da transmissão e novas estratégias de tratamento. O artigo aponta para a capacidade que o MRSA tem de formar biofilmes em várias superfícies como: dispositivos de implantes, tecidos humanos ou superfícies inertes e a necessidade de adotar medidas preventivas como: uso racional de antimicrobianos; monitoramento e isolamento de pacientes de alto risco; e métodos de higienização pessoal e ambiental. Destaca a necessidade de novas opções terapêuticas para combater a formação e as infecções associadas ao biofilme de MRSA como: chalconas, bacteriocinas, andaime eletrônico de peróxido de hidrogênio, bacteriófagos e as endolisinas. Em última análise, estamos longe de encontrar uma solução para este problema, mas um esforço conjunto de governantes, profissionais da saúde e comunidade, pode ajudar a amenizar a situação.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina; Biofilme; Meio Ambiente; Terapêutica.

Abstract:

The article aims to discuss about the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and the capacity of biofilm formation in health services, in the community and in the food production chain and how much this can impact on morbidity and mortality rates if it becomes a serious public health problem. The study aims to conduct a qualitative and exploratory bibliographic review to identify environments of MRSA biofilm formation, prevention measures, transmission control and new treatment strategies. The article points to the MRSA's ability to form biofilms on various surfaces, such as: implant devices, human tissues or inert surfaces and the need to adopt preventive measures, such as: rational use of antimicrobials; monitoring and isolating high-risk patients; and methods of personal and environmental hygiene. It highlights the need for new therapeutic options to combat the formation and infections associated with MRSA biofilm, such as: chalcones, bactericins, electronic scaffolding of hydrogen peroxide, bacteriophages and endolysins. Summing up, we are far from finding a solution to this problem, but a joint effort by government officials, health professionals and the community could help to alleviate the situation.

Keywords: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; Biofilm; Environment; Therapeutics.

Introdução:

Segundo a Organização Mundial da Saúde¹, a resistência aos antibióticos é um complexo desafio global à saúde pública, exigindo mais do que uma única estratégia para enfrentá-lo. Tal organização publicou recentemente uma lista de patógenos prioritários, entre esses consta o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), para o qual são urgentemente necessárias novas terapias e diretrizes terapêuticas atualizadas.

O MRSA é um dos principais patógenos humanos, sendo responsável por muitas doenças, desde infecções na pele a infecções invasivas graves, como pneumonia, infecções de tecidos moles, ossos, válvulas cardíacas e até septicemia fatal em humanos². Portanto, as infecções por MRSA, devido ao seu padrão de virulência, à dificuldade de tratamento, à sua epidemiologia complexa e à sua capacidade de adquirir novos mecanismos de resistência a antibióticos, têm tornado sua disseminação um grave problema de saúde pública^{3,4}.

Na década de 1960, surgiram os primeiros relatos de cepas de MRSA em humanos e rapidamente emergiu como um importante agente patogênico nosocomial. Até a década de 1980, as infecções por MRSA eram restritas a hospitais e associadas a indivíduos imunocomprometidos. No final da década de 1980, MRSA surgiu como um importante agente de infecções adquiridas na comunidade. Atualmente, existem relatos de cepas de MRSA em animais domésticos, gado, aves selvagens e outros animais. O surgimento de MRSA em animais produtores de alimentos causou certa preocupação, por representar uma ameaça sobre a sua possível disseminação através da cadeia de produção de alimentos⁴.

A epidemiologia do MRSA que, tradicionalmente, estava limitado aos hospitais, mudou nos últimos anos, devido à rápida emergência e ao aumento na prevalência de infecções causadas por MRSA na comunidade (CA - MRSA), causando infecções graves em pessoas saudáveis e não expostas aos habituais fatores de risco^{5,6}. Entre os vários fatores de virulência

do MRSA, os mais importantes são a adesão de bactérias ao tecido do hospedeiro e a formação de biofilmes, tornando suas infecções um sério problema clínico e terapêutico⁷.

As infecções associadas ao biofilme são crônicas e recorrentes e os maiores desafios no controle de patógenos microbianos, como MRSA, são a formação ou remoção dos biofilmes, estruturas resistentes a tratamentos antimicrobianos, condições ambientais adversas e imunidade do hospedeiro⁸. Além disso, atualmente, mais de 80% das doenças infecciosas crônicas são mediadas por biofilmes e sabe-se que os antimicrobianos convencionais são inadequados para erradicar essas infecções⁹. Portanto, a prevenção e o tratamento são importantes e para isto faz-se necessário o desenvolvimento de novas estratégias eficazes contra biofilme⁸.

A resistência à meticilina e a capacidade de formação de biofilme nos serviços de saúde, na comunidade e na cadeia de produção de alimentos podem contribuir para o aumento dos índices de morbimortalidade, principalmente pela dificuldade encontrada no tratamento, podendo trazer impactos reais e potenciais à saúde humana. As infecções por MRSA, além de serem um desafio na prática clínica, são também um problema de saúde pública. Portanto, torna-se evidente a importância do conhecimento científico a respeito deste assunto através de uma revisão bibliográfica do tema, visto que existe a necessidade de instituição a nível mundial de medidas eficazes, tanto nos serviços de saúde e hospitais quanto na comunidade para prevenção e controle da transmissão do MRSA. Além disso, são necessárias novas opções terapêuticas para combater a disseminação de infecções difíceis de tratar, por *S. aureus*, resistentes a medicamentos e associadas à formação de biofilme.

Esta revisão bibliográfica procura reunir dados e informações da literatura científica para identificar os ambientes de formação de biofilme por MRSA e analisar seu impacto sobre a saúde humana, além de identificar medidas de prevenção e controle da disseminação e tratamento.

Materiais e Métodos

A metodologia adotada na pesquisa foi uma revisão bibliográfica, através da análise de artigos publicados em periódicos internacionais e nacionais reconhecidos e livros publicados por editores qualificados, reconhecidos na área da saúde.

Foram utilizados os vocabulários controlados Medical Subject Headings – MeSH (www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh) e Descritores em Ciência da Saúde – DeCS (<http://decs.bvs.br>) com o objetivo de selecionar termos a serem usados na pesquisa bibliográfica. Foram utilizados os termos nos idiomas inglês e português, respectivamente, conforme listados a seguir: em inglês: *Methicillin resistant Staphylococcus aureus*, *biofilm*, *environment*, *therapeutics*; em português: *Staphylococcus aureus resistente à meticilina*, *biofilme*, *meio ambiente*, *terapêutica*; isoladamente e associados pelo conector AND, além do sinônimo *tratamento* para o descritor *therapeutics/terapêutica*. A pesquisa dos artigos foi principalmente realizada a partir do ano de 2010, mas não foram utilizados filtros de tempo e foram contemplados alguns artigos anteriores, com embasamento teórico.

A estratégia de busca foi realizada nas bases de dados eletrônicas PubMed/MEDLINE, da National Library of Medicine, dos Estados Unidos, Literatura Latino-Americana e do Caribe (LILACS), mantida pela BIREME; Scientific Electronic Library Online - SciELO, Portal de Periódicos da Capes e Google Scholar.

Como critério de inclusão foram selecionados artigos originais, independente do delineamento utilizado, para identificar os locais de formação de biofilme no meio ambiente por MRSA e para analisar o impacto sobre a saúde humana e medidas de prevenção, controle e tratamento. Foram excluídos artigos referentes à formação de biofilmes por outros patógenos causadores de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) no ambiente hospitalar e na comunidade.

A maioria dos artigos selecionados para escrever esse periódico foi encontrada na base de dados PubMed/MEDLINE, utilizando os termos MESH Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and biofilm and environment and therapeutics, além do sinônimo *treatment*; resultando em 52 artigos. Na base de dados LILACS, utilizando os termos Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and biofilm, foram encontrados 9 artigos. Após leitura dos resumos dos artigos foram selecionadas os que se referiam diretamente ao tema do estudo, conforme critérios de inclusão previamente definidos.

Adicionalmente foram utilizadas referências citadas nos artigos selecionados para localizar outros estudos. A coleta de dados foi realizada de forma sistemática após a leitura e análise dos artigos previamente selecionados.

Resultados:

***Staphylococcus aureus* resistente à meticilina**

A resistência do *S. aureus* à meticilina é devido à presença do gene *mecA*, que codifica uma proteína alterada de ligação à penicilina (PBP2), que possui baixa afinidade pelas penicilinas semissintéticas; portanto, tornando as cepas de *S. aureus* resistentes a todos os antimicrobianos β -lactâmicos. Esses determinantes da resistência à meticilina fazem parte de um elemento genético móvel denominado cromossomo estafilocócico em cassette *mec* (SCC *mec*). Portanto, o surgimento de cepas de estafilococos resistentes à meticilina é devido à aquisição e inserção desses elementos genéticos móveis nos cromossomos de cepas suscetíveis^{2,10,11}.

Formação de Biofilme

Os biofilmes são comunidades microbianas complexas que vivem em estruturas organizadas que se ligam às superfícies bióticas e abióticas e envolvem microrganismos em

uma matriz composta por substâncias poliméricas extracelulares hidratada (EPSs) autoproduzidas⁹. A estrutura complexa do biofilme protege os microrganismos dos antibióticos e a determinados tipos de mecanismos de defesa do hospedeiro¹².

Cepas diferentes de *S. aureus* podem produzir diferentes adesinas ou toxinas ou podem diferir em sua capacidade de produzir biofilmes e resistir à fagocitose². Os mecanismos de formação de biofilme por *S. aureus* são pouco compreendidos, e estudos sobre o perfil de expressão de genes envolvidos no processo de formação de biofilme ainda são limitados⁴. A formação do biofilme é influenciada pelas características da superfície e das cepas de MRSA. A maioria dos produtores de biofilme de MRSA transporta SCC mec tipo IVa, sugerindo que a presença de SCC mec IVa e/ou agro tipo III pode estar relacionado à capacidade de formar biofilme¹³.

O desenvolvimento do biofilme e a patogenicidade de *S. aureus* são controlados pela comunicação célula a célula, um mecanismo regulador que é frequentemente chamado de *quorum sensing*. Durante o crescimento, as células de *S. aureus* sintetizam e secretam um sinal de peptídeo auto-indutor que se acumula no ambiente extracelular. Quando este sinal atinge uma concentração crítica, liga-se a um receptor de superfície e ativa uma cascata reguladora chamada de regulador de genes acessórios, resultando no aumento da expressão de fatores de virulência, incluindo toxinas, hemolisinas, proteases e outras enzimas que degradam os tecidos¹⁴.

A formação de biofilme depende de muitos fatores, como ambiente, disponibilidade de nutrientes, características de adesão e a presença dos genes associados ao biofilme e sua expressão¹⁵. Os biofilmes são mais resistentes aos antimicrobianos do que as bactérias em estado planctônico. Vários fatores podem contribuir para a resistência geral das bactérias do biofilme, tais como a natureza compacta das estruturas do biofilme, taxas metabólicas e de crescimento reduzidas, proteção por substâncias poliméricas extracelulares e mecanismos de

resistência específicos conferidos pela fisiologia alterada das bactérias do biofilme em comparação com as bactérias planctônicas¹⁶.

O principal componente da formação do biofilme em *S. aureus* é o polissacarídeo de adesão intercelular (PIA) codificado pelo operon de adesão intercelular (*ica*) e que contém os genes *icaADBC*, porém pode ocorrer a formação de biofilme *ica* independente, onde as bactérias utilizam outros mecanismos como proteínas extracelulares na matriz do biofilme¹³. As cepas clínicas de MSSA formam predominantemente biofilme dependente do operon *icaADBC* e da produção de PIA, enquanto as cepas de MRSA formam biofilmes independentes de PIA e requerem proteínas de superfície, como a formação da fibronectina, importante na formação de biofilme independente de *ica* por isolados de MRSA humanos. Além disso, foram implicadas no fenótipo de biofilme de isolados de MRSA a liberação de DNA extracelular (eDNA) e a principal autolisina, *Alt*, para fixação primária a superfícies de poliestireno¹⁷.

Estima-se que até 60% das infecções humanas sejam devidas aos biofilmes¹⁸. O MRSA têm uma capacidade inerente de formar biofilmes em várias superfícies, tais como: dispositivos médicos implantados, tecidos humanos ou superfícies inertes, em ambientes hospitalares ou da indústria de alimentos¹⁹. As infecções associadas ao biofilme são as principais causas de comprometimento da cicatrização de feridas e da morbidade de pacientes²⁰ e são frequentemente crônicas ou recidivantes, portanto, é de suma importância a prevenção e o tratamento bem-sucedido dessas infecções⁸.

Biofilme de cepas MRSA na clínica humana

As cepas de MRSA associadas a serviços de saúde (HA-MRSA) carregam o elemento genético móvel denominado cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*) dos tipos I,

II, III²¹. Cepas de HA-MRSA são endêmicas em todo o mundo, e conseqüentemente são uma das principais causas de infecções nosocomiais¹⁰.

A capacidade de formar biofilme em dispositivos médicos, tais como cateteres, próteses, respiradores, entre outros, associada a infecções por MRSA adquiridas em hospitais, tem-se tornado um desafio, visto que pode resultar em infecção invasiva, sepse e mortalidade²².

A hospitalização prolongada, principalmente em unidade de terapia intensiva, procedimentos invasivos como cirurgia, uso irracional de antimicrobianos e a proximidade com a equipe médica ou outros pacientes colonizados ou infectados, podem aumentar a probabilidade de transmissão e infecções por MRSA. O principal fator de risco de transmissão do MRSA em ambiente hospitalar é entre os pacientes, por encontrar-se nas narinas e na pele, podendo ser facilmente transmitido. O principal veículo pelo qual o paciente adquire o MRSA é por meio das mãos ou luvas dos profissionais de saúde que se tornam contaminadas mediante o contato com superfícies ou artigos hospitalares. E também por meio dos os equipamentos utilizados no atendimento aos pacientes e objetos localizados nos quartos que podem atuar como reservatórios, visto que o MRSA pode permanecer em vários objetos e superfícies durante semanas e até meses^{3,23}.

A longa sobrevivência do MRSA em tecidos hospitalares usados por paciente e profissionais da saúde e no ambiente hospitalar, como roupas de banho, jalecos, cortinas de privacidade hospitalar, faz com que estes sejam reservatórios para essas bactérias e à medida que um profissional de saúde se desloca de um paciente para outro pode se tornar um vetor para a disseminação deste microrganismo²⁴. O *S. aureus* adere aos tecidos hospedeiros, coloniza superfícies médicas, como cateteres ou materiais protéticos, cresce e persiste de várias maneiras, formando biofilmes, evitando as defesas do hospedeiro e mostrando uma resistência aumentada ao tratamento antimicrobiano²⁵. Por esta razão, infecções por dispositivos protéticos podem ser muito difíceis de erradicar sem a remoção do dispositivo².

As infecções adquiridas em hospitais podem ser derivadas de cepas de CA-MRSA, e verificou-se que cepas HA-MRSA estão se espalhando pela comunidade²⁵.

Biofilme de MRSA na comunidade

As cepas de MRSA associadas à comunidade (CA-MRSA) geralmente afetam indivíduos aparentemente saudáveis, apresentam características genética e fenotípicas diferentes das cepas hospitalares⁶, e carregam preferencialmente o SCC $_{mec}$ do tipo IV e, eventualmente, do tipo V. O SCC $_{mec}$ tipo IV é um dos menores cassetes cromossômicos conhecidos e não possui genes acoplados que codificam resistência a outros antimicrobianos não β -lactâmicos, portanto tendem a ser sensíveis à maioria dos antimicrobianos não β -lactâmicos^{5,10,21}.

As cepas de CA-MRSA podem produzir até 18 toxinas diferentes daquelas hospitalares⁶, incluindo o gene da toxina Panton-Valentine leucocidina (PVL) que é codificada pelos genes lukF e lukS^{5,11}. O PVL constitui-se um dos fatores de virulência mais comuns entre as cepas de CA-MRSA e relaciona-se à necrose tecidual e danos às células imunológicas^{6,25}.

A formação de biofilme por CA-MRSA independente de *ica* e depende da aderência inicial de *S. aureus* às superfícies abióticas de poliestireno pela autolisina (Alt) que lisa as células e causa a liberação de eDNA^{14,17}.

As infecções de pele ou partes moles pelo MRSA-CA ocorre com a quebra da barreira cutânea ou diminuição da imunidade do indivíduo, pelo contato com artigos e superfícies contaminadas, moradias superlotadas, falta de higiene, participação em esportes de contato e uso indiscriminado de antimicrobianos²³.

Biofilme de MRSA em alimentos

O *S. aureus* pode ser transmitido para alimentos contaminados, sendo um dos patógenos que mais causam surtos de origem alimentar no Brasil²⁶. O surgimento de MRSA em animais produtores de alimentos provocou grande preocupação quanto à presença deste patógeno em gêneros alimentícios, podendo causar colonização ou infecção pelo manuseio ou consumo de alimentos⁴. A incidência de MRSA, em alguns casos com alta frequência, em amostras, manipuladores, animais produtores e ambientes de processamento de alimentos, significa que a cadeia de produção de alimentos é um canal de transmissão entre microrganismos resistentes e humanos e representa um potencial risco à saúde pública²⁶.

As cepas de MRSA associadas a gado (LA-MRSA), são tradicionalmente consideradas pobres colonizadoras de seres humanos e menos agressivas por não codificar muitas das toxinas frequentemente associadas ao *S. aureus*. Evidências recentes mostraram que o clone CC398, o mais frequentemente isolado de animais, é transmissível entre humanos¹⁰. Além disso, a análise do genoma completo de LA-MRSA ST398 indicou vários elementos genéticos móveis que conferem resistência a antibióticos, bem como a presença de múltiplos elementos conjugativos integrativos combinados com a ausência de um sistema de restrição e modificação do tipo I que poderia aumentar o gene horizontal de transferência²⁷.

Uma característica importante de *S. aureus* é a sua capacidade de formar biofilmes, através de componentes da superfície microbiana que reconhecem moléculas de matriz adesiva (MSCRAMMS) participam da fixação do biofilme, enquanto a molécula de adesão de polissacarídeo codificada pelo operon *icaABCD* está envolvida na maturação do biofilme. A ativação do sistema regulador Agr desempenha um papel na dispersão do biofilme que podem ser avaliada pela medição dos níveis de expressão de *hld-RNAIII*²⁷.

Os biofilmes de MRSA nas superfícies de materiais e equipamentos utilizados na indústria de alimentos apresentam um sério risco de contaminação alimentar, contribuindo para a disseminação do *S. aureus* na cadeia de produção de alimentos^{4,28}.

O uso indiscriminado de agentes antimicrobianos na criação de animais como promotores de crescimento ou usados para prevenir doenças em animais saudáveis e outras atividades agrícolas contribuiu para a ampla distribuição do MRSA entre os animais. Numerosos estudos indicaram que os seres humanos em contato com animais também correm alto risco de serem colonizados e infectados com MRSA associado a animais (LA-MRSA)¹¹.

Segundo o estudo Wu et al em 2019, em isolados de *S. aureus* em vacas leiteiras em Xinjlama na China, mostraram que a maioria das cepas eram formadoras de biofilme, portadoras de genes *ica* e carregavam novos genes de enterotoxina. Além disso, isolados de biofilme foram predominantes e apresentaram maior resistência, mas menor virulência do que o estado plactônico²⁹.

Segundo o estudo Thiran et al em 2017, os isolados de laticínios *S. aureus* GTB mostraram uma formação significativamente maior de biofilme em comparação com a maioria de outros genótipos de subtipos de *S. aureus*, incluindo o MRSA. No entanto, a capacidade das bactérias multirresistentes, como MRSA de produzir enterotoxinas e formar biofilmes em instalações de processamento de alimentos é uma grande preocupação para a segurança de alimentos³⁰.

Segundo o estudo de Lachance et al em 2020, realizado para estimar a prevalência de MRSA associada ao gado (LA-MRSA) isolado de carne de frango na província de Quebec, Canadá, detectou que os isolados possuíam genes que codificam para a resistência a antibióticos, fatores de virulência e capacidade de formar biofilme, podendo levar à colonização e persistência dessas cepas no ambiente de processamento de carne e conseqüentemente aumentar seu potencial zoonótico.

Resistência à meticilina associada à formação de biofilme

A resistência antimicrobiana é um fenômeno que ocorre naturalmente, mas nos últimos anos tem representado uma ameaça à saúde. Diversos fatores contribuem para disseminação de agentes multirresistentes, tais como ausência de novas opções terapêuticas, uso extensivo de antibióticos em atividades ligadas ao setor agropecuário, prescrição inadequada ou uso indiscriminado de antibióticos.

Os biofilmes estafilocócicos atuam como fatores de virulência, permitindo que as cepas de MRSA fiquem aderidas a superfícies, tornando-se mais resistente aos antimicrobianos protegendo-se do sistema imunológico dos pacientes, tornando-se responsável por infecções crônicas ou persistentes³¹.

A capacidade de *S. aureus* fixar-se na superfície do corpo estranho e desenvolver um biofilme é um importante determinante da resistência à profilaxia com antibióticos¹⁴. Antibióticos de último recurso, como a vancomicina, são em grande parte ineficazes contra cepas persistentes de *S. aureus* e em estado de biofilmes, sendo necessário a pesquisa de agentes antibacterianos alternativos que tenham atividade bactericida contra células replicantes, persistentes e em biofilmes estabelecidos³². A resistência associada ao biofilme é um desafio na prática clínica, portanto, também são necessárias novas abordagens sem o uso de antibióticos direcionadas ao biofilme para tratar infecções bacterianas associadas ao biofilme, incluindo aquelas causadas por bactérias resistentes, como o MRSA^{4,12}.

Medidas Preventivas de infecções associadas à formação de biofilme de MRSA

O risco de desenvolvimento de *S. aureus* resistente a glicopeptídeos, tanto nos hospitais como na comunidade, tornam essencial a necessidade de medidas eficazes para prevenção e transmissão de MRSA²³. Visto isto, existe a necessidade de adotar medidas preventivas como o uso racional de antimicrobianos, monitoramento de pacientes de alto risco, vigilância ativa e isolamento de pacientes e métodos de desinfecção e esterilização ambiental³³.

Várias estratégias podem ajudar a prevenir e controlar o MRSA nos serviços da saúde, como: identificação precoce e isolamento de portadores assintomáticos; lavagem do corpo com antissépticos; uso regular de EPIs (luvas, jalecos, máscaras) pelos profissionais de saúde; protocolos de higiene das mãos; e programa de controle de antimicrobianos. Além disso, a vigilância ativa da colonização de pacientes é importante para a triagem dos pacientes no momento da internação hospitalar para identificar os portadores MRSA e exames periódicos para identificar os pacientes que adquirem o MRSA durante a internação. Já o rastreamento em profissionais da saúde não é viável em muitos serviços de saúde devido ao seu alto custo, devendo dar prioridade aos profissionais que trabalha em áreas de alto risco²³.

O treinamento da equipe de serviços gerais e a limpeza do ambiente adequada é essencial para reduzir os reservatórios ambientais de patógenos hospitalares conhecidos²³. Há várias evidências de que a limpeza ou desinfecção do meio ambiente pode reduzir a transmissão de patógenos associados a saúde, mas existe a necessidade de métodos aprimorados de desinfecção em ambiente hospitalar. Estudos prévios sugerem que a tecnologia de vapor de peróxido de hidrogênio merece uma avaliação mais aprofundada como método de descontaminação do meio ambiente nos serviços de saúde³⁴.

A higienização ambiental, com cloro e glutaraldeído é capaz de matar as bactérias no estado de biofilme se sua concentração for suficientemente elevada, por exemplo, com o hipoclorito de sódio, um biocida oxidante, requer um aumento de 600 vezes na concentração para matar células de biofilme de *S. aureus* em comparação com células planctônicas da mesma espécie¹⁶.

Na comunidade, para o controle de MRSA é importante a detecção precoce através de métodos de rastreamento dos sinais e sintomas de infecções de pele e partes moles, tratamento adequado e notificação dos casos²³. Além disso, deve-se intensificar medidas de higiene

ambiental e pessoal, incentivar a lavagem das mãos, de roupas e toalhas evitando o compartilhamento e a utilização de curativo sobre a lesão nos domicílios⁶.

Dentro dos serviços de alimentação, para evitar a formação do biofilme, é necessário que sejam adequadamente implantadas as boas práticas de higienização dos alimentos e das superfícies antes e após o seu processamento. A limpeza e a sanitização devem ser aplicadas com o intuito de prevenir a adesão microbiana às superfícies, evitando que os alimentos sejam contaminados²⁸.

A contaminação por alimentos pode ser evitada aderindo as regras de higiene pelos manipuladores e cozinhando adequadamente os alimentos, para matar as células de MRSA⁴. Outra medida preventiva é evitar o uso indiscriminado de agentes antimicrobianos na criação de animais e outras atividades agrícolas¹¹.

Inibição da formação de biofilme de MRSA e tratamentos de infecções associadas ao biofilme

O arsenal de antimicrobianos disponível atualmente para tratamento do MRSA compreende apenas um agente tópico (Mupirocina), um número limitado de agentes orais como a tetraciclina e a rifampicina (terapia combinada), clindamicina, linezolida e sulfametoxazol + trimetropim e vários agentes disponíveis por infusão intravenosa como: clindamicina e linezolida, vancomicina, teicoplanina, tigeciclina, daptomicina, quinopristina-dalfopristina³⁵.

A vancomicina é um antibiótico glicopeptídeo amplamente utilizado no tratamento de infecções graves por bactérias gram-positivas, sendo o agente de primeira linha no tratamento de infecções por MRSA³⁶⁻³⁸ que apresentam elevada ocorrência em unidades de terapia intensiva (UTIs) nos hospitais^{39,40}. O aumento da prevalência de infecções hospitalares e comunitárias provocadas por MRSA e por outros microrganismos que são resistentes à

penicilina tem causado um aumento do uso da vancomicina e, como consequência, as cepas de MRSA começam a desenvolver mecanismos de resistência^{35,41}.

Há a necessidade de novas opções terapêuticas para combater a formação e as infecções associadas ao biofilme de MRSA que penetrem no biofilme e atinjam a bactéria-alvo. Destacam-se algumas estratégias de tratamento de infecções por MRSA associada à formação de biofilme, como as chalconas, as bacteriocinas, os bacteriófagos e as endolisinas, usadas como alternativa ou complemento à antibioticoterapia.

As chalconas pertencem a um grupo de flavonoides, são compostos que ocorrem naturalmente biossintetizados em várias espécies de plantas, frutas e vegetais, e apresentam alta atividade anti-estafilocócica e efeito sobre os fatores de virulência das cepas de MRSA. Por este motivo estão sendo pesquisadas como um novo e promissor agente antimicrobiano, para a prevenção da aderência bacteriana às superfícies de polímeros plásticos ou em combinação com a terapia anti-MRSA para tratamento de infecções estafilocócicas⁷.

Outra estratégia proposta é o uso de bacteriocinas, peptídeos ou proteínas antimicrobianas sintetizados por certas bactérias em biofilmes formados por *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA). As bacteriocinas são adequadas para uso clínico porque possuem potência significativa, alta estabilidade, baixa toxicidade e espectros de atividade amplos e estreitos. Segundo o estudo Okuda et al, 2013, foram avaliadas a atividade de três bacteriocinas com estruturas diferentes (nisina A, lacticina Q e nukacina ISK-1), e demonstrou que a nisina A é eficaz contra o MRSA e outros biofilmes estafilocócicos. Este estudo demonstrou que as bacteriocinas que formam poros estáveis nas células do biofilme e que têm modo ação semelhantes ao da nisina A podem ser mais eficazes que antibióticos na prevenção e tratamento de infecções por biofilme por MRSA⁸.

Segundo o estudo de Zhi Ma et al, 2017, um novo peptídeo anfipático modificado, WRL3, tem um enorme potencial como novo agente antimicrobiano para tratamento de

infecções clínicas por MRSA de feridas por queimaduras de pele, devido a sua capacidade de controlar a proliferação do MRSA no tecido da ferida, reduzir a carga biológica e fornecer um ambiente mais favorável para a cicatrização da ferida⁴².

Os bacteriófagos, vírus que infectam bactérias, são uma alternativa promissora no controle de infecção por biofilme, podendo ser utilizados em medicina humana, veterinária, em ambientes industriais, entre outras aplicações¹⁹. Os bacteriófagos se adaptaram para penetrar nos biofilmes e infectar as células bacterianas protegidas dentro dessas estruturas complexas, causando sua destruição¹⁰. Com o objetivo de eliminação dos biofilmes alguns fagos produzem enzimas com atividade de polissacarídeo despolimerase, que podem degradar polissacarídeos capsulares e exopolissacarídeos (EPS), como a adesina intercelular de polissacarídeo (PIA), um dos principais componentes estruturais da maioria dos biofilmes. Além disso, recentemente, a engenharia genética dotou fagos com habilidades de expressar hidrolases mais fortes ou interferir no sensor quórum, para o descarte do biofilme⁴³.

Segundo o estudo Alves et al, 2014, um novo fago, o DRA88, foi isolado e misturado ao fago K e mostrou forte atividade lítica contra uma variedade de isolados de *S. aureus* inclusive cepas de MRSA, podendo formar a base de um tratamento eficaz para infecções causadas por biofilme²⁰.

Segundo o estudo de Cha et al, 2019, o bacteriófago *Podoviridae* (CSA13) isolado de uma galinha, pode remover com sucesso mais de 78% e 93% dos biofilmes MSSA e MRSA em um ambiente experimental, respectivamente, isso levou-o a sugerir que o próprio fago pode servir como um agente de biocontrole eficaz, promissor em ambientes clínicos e da indústria alimentícia.

A terapia com bacteriófagos é uma alternativa viável e adjuvante aos antibióticos no tratamento de infecções, pois oferece algumas vantagens, se comparada aos antibacterianos convencionais, pois os fagos podem ser muito específicos a um determinado alvo, às vezes

infectando apenas algumas linhagens de uma determinada espécie, são inócuos para os seres humanos e para o meio ambiente e a natureza fornece um enorme reservatório de possíveis novas variantes para que novos produtos possam estar em desenvolvimento contínuo¹⁹. Os bacteriófagos também têm a propriedade de serem autorreplicantes, o que favorece o aumento da concentração de partículas do fago no local da infecção, em contraste com os antibióticos, que exibem uma diminuição gradual da concentração após o tempo de aplicação¹⁰.

As endolisinas também podem ser usadas com sucesso no tratamento de infecções estafilocócicas, geralmente não selecionam bactérias resistentes e parecem atacar as ligações química nos peptidoglicanos essenciais à parede celular. Além disso, as endolisinas de bactérias Gram-positivos, tornam-se adequadas para aplicações profiláticas, são dotadas de dois ou mais domínios catalíticos com atividades diferentes, fato que diminui a probabilidade de desenvolvimento de resistência¹⁰.

Uma abordagem terapêutica promissora envolve a exploração de mecanismos imunes do hospedeiro natural⁴⁴. Segundo o estudo de Hanke et al, 2013, uma nova estratégia terapêutica é a ativação de macrófagos através da administração exógena de macrófagos ativados, por M1, diretamente em locais da infecção por biofilme, reduzindo a carga de biofilme associado a cateteres em comparação ao tratamento com antibióticos, o que demonstra que a atividade pró-inflamatória dos macrófagos podem superar o ambiente inibitório imune local e a barreira fibrótica criado durante as infecções por biofilme.

Também são necessárias estratégias direcionadas as infecções bacterianas associadas ao biofilme, incluindo aquelas causadas por bactérias resistentes a medicamentos como MRSA, sem a utilização de antibióticos para tratar.

Os antimicrobianos e anti-sépticos tópicos tradicionais usados com frequência para eliminação de biofilmes, incluem o iodo povidona, hipoclorito de sódio, gluconato de clorexidina, curativos a base de prata, cobre, zinco, méis medicinais e peróxido de hidrogênio.

Baixas concentrações de peróxido de hidrogênio são biocidas, conseguem eliminar os biofilmes e estimular a cicatrização de feridas¹².

Segundo o estudo de Raval et. al, 2019, o desenvolvimento de um andaime eletrônico de peróxido de hidrogênio erradica eficientemente os biofilmes MRSA, com base na quantificação bacteriana e medições de ATP. Esse oferece inúmeras vantagens pois pode ser projetado em qualquer formato, o que é importante para cobrir superfícies inteiras da ferida e pode eliminar uma diversidade de patógenos formadores de biofilme presente nas feridas¹².

Biosulfactantes, produtos de limpeza ecológicos, são capazes de modificar a hidrofobicidade da superfície bacteriana e conseqüentemente, a adesão microbiana a superfícies sólidas⁴⁵. Segundo o estudo de Coronel-Leon et. al, 2016, que desenvolveu e otimizou um meio econômico para produção de liquenisina, surfactante produzido por *Bacillus licheniformis*, esta molécula possui notável atividade anti-adesão, sendo capaz de prevenir e eliminar a formação de biofilme por cepas patogênicas, podendo ser uma alternativa interessante para controlar o crescimento de vários patógenos inclusive os biofilmes de MRSA.

Discussão:

A resistência bacteriana associada ao desenvolvimento do biofilme e a patogenicidade tem se tornado um grave problema de saúde pública com o conseqüente aumento do tempo de internação hospitalar e dos custos do tratamento das infecções associadas à assistência médica. A formação de biofilmes de MRSA nos serviços de saúde, na comunidade e na cadeia de produção de alimentos estão associados as altas taxas de morbimortalidade, pela disseminação de infecções e principalmente pela dificuldade encontrada no tratamento. Dessa forma, o conhecimento dos fatores de risco, mecanismos de transmissão, medidas preventivas e da epidemiologia local de MRSA são fundamentais para a prevenção, controle e tratamento de infecções associadas a formação de biofilme de MRSA.

Segundo Doukgeraki et al, 2017, os mecanismos de formação de biofilmes por *S. aureus* são pouco compreendidos, portanto torna-se importante investir mais em estudos sobre o perfil de expressão de genes envolvidos no processo de formação de biofilme para poder prevenir, controlar e tratar infecções por MRSA⁴.

Segundo Alvarez et al, 2010, o risco de desenvolvimento de *S. aureus* resistente a glicopeptídeo, tanto nos hospitais como na comunidade, torna-se essencial a necessidade de implantação de medidas de prevenção e controle eficazes e a conscientização da equipe multiprofissional em hospitais e a educação em saúde da comunidade, visto a mudança do perfil epidemiológico do MRSA, se tornam fundamentais para impedir a disseminação de infecções por MRSA associada a formação de biofilme²³.

A resistência associada a formação de biofilme é um desafio na prática clínica, sendo necessário o investimento em pesquisa e desenvolvimento de novos tratamentos antimicrobianos e outras alternativas terapêuticas sem o uso de antibióticos que sejam eficazes contra a formação ou remoção do biofilme, para evitar as infecções crônicas e recidivantes associadas ao biofilme de MRSA, pois formam estruturas resistentes a tratamentos antimicrobianos convencionais, condições ambientais adversas e imunidade do hospedeiro.

De acordo com literatura científica, algumas alternativas de tratamento ou complemento a antibioticoterapia de infecções por MRSA associada a formação de biofilme são as chalconas, as bacteriocinas, os bacteriófagos e as endolisinas.

Segundo o estudo de Hanke et al, 2013, uma nova estratégia terapêutica é a ativação de macrófagos para reduzir a carga do biofilme⁴⁴. Visto isto, torna-se importante o investimento em mais estudos científicos que envolvam os mecanismos imunes do hospedeiro natural.

Existe também a necessidade do aprimoramento de desinfecção em ambiente hospitalar, as alternativas propostas para conseguir eliminar os biofilmes foram o peróxido de hidrogênio e os biosulfactantes. Sugere-se investir em mais estudos científicos, para avaliação mais

aprofundada destes e de outros métodos de descontaminação do meio ambiente nos serviços de saúde.

Em suma, estamos longe de encontrar uma solução para este problema, mas um esforço conjunto de governantes, profissionais da saúde e comunidade, pode ajudar amenizar a situação, através de algumas medidas tais como: ações de vigilância, rapidez no diagnóstico laboratorial correto do agente infeccioso, garantia de acesso ininterrupto aos medicamentos essenciais, regulamentação e promoção do uso racional dos antimicrobianos, aprimoramento de estratégias de prevenção e controle das infecções hospitalares e a promoção, inovação, pesquisa e desenvolvimento de novas terapias e diretrizes terapêuticas atualizadas.

Agradecimentos:

À Universidade Federal Rio Grande do Sul (UFRGS), através do Curso de Especialização Microbiologia Clínica.

Referências:

1. WHO - World Health Organization. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance. World Health Organization, Geneva; 2014.
2. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2008;46:359–359.
3. Monteiro Sales L, da Silva T. *Staphylococcus aureus* Meticilina Resistente: Um Desafio para a Saúde Pública. *Acta Biomedica Brasiliensia*. 2012;3(1):1–13.
4. Doulgeraki AI, Di Ciccio P, Ianieri A, Nychas GJE. Methicillin-resistant food-related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology* [Internet]. 2017;168(1):1–15. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2016.08.001>
5. Gelatti LC, Becker AP. *Staphylococcus aureus* resistentes a metcilina- disseminacao emergente

- na comunidade. *ann Bras Dermatol*. 2009;84(5):501–6.
6. Evangelista S de S, de Oliveira AC. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a global problem. *Revista brasileira de enfermagem*. 2015;68(1):136–43.
 7. Bozic DD, Milenkovic M, Ivkovic B, Cirkovic I. Newly-synthesized chalcones-inhibition of adherence and biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014;45(1):263–70.
 8. Okuda KI, Zendo T, Sugimoto S, Iwase T, Tajima A, Yamada S, et al. Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013;57(11):5572–9.
 9. Li XH, Lee JH. Antibiofilm agents: A new perspective for antimicrobial strategy. *Journal of Microbiology*. 2017;55(10):753–66.
 10. Álvarez A, Fernández L, Gutiérrez D, Iglesias B, Rodríguez A, García P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals: Latest trends and treatments based on bacteriophages. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57(12):1–8.
 11. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical microbiology reviews*. 2018;31(4):1–103.
 12. Raval YS, Mohamed A, Zmuda HM, Patel R, Beyenal H. Hydrogen-Peroxide-Generating Electrochemical Scaffold Eradicates Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilms . *Global Challenges*. 2019;3(6):1800101.
 13. Vergara A, Normanno G, Di Ciccio P, Pedonese F, Nuvoloni R, Parisi A, et al. Biofilm Formation and Its Relationship with the Molecular Characteristics of Food-Related Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Food Science [Internet]*. 2017 Oct [cited 2019 Dec 7];82(10):2364–70. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.13846>
 14. Lauderdale KJ, Malone CL, Boles BR, Morcuende J, Horswill AR. Biofilm dispersal of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on orthopedic implant material. *Journal of Orthopaedic Research*. 2010;28(1):55–61.

15. Neopane P, Nepal HP, Shrestha R, Uehara O, Abiko Y. In vitro biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from wounds of hospital-admitted patients and their association with antimicrobial resistance. *International Journal of General Medicine*. 2018;11:25–32.
16. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2003;2(2):114–22.
17. McCarthy H, Rudkin JK, Black NS, Gallagher L, O’Neill E, O’Gara JP. Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2015;5(January):1–9.
18. Engelkirk PG, Engelkirk JD. *Burton Microbiologia para as ciências da saúde*. 9th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012. 436 p.
19. González S, Fernández L, Gutiérrez D, Campelo AB, Rodríguez A, García P. Analysis of Different Parameters Affecting Diffusion, Propagation and Survival of Staphylophages in Bacterial Biofilms. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9(September):1–13.
20. Alves DR, Gaudion A, Bean JE, Perez Esteban P, Arnot TC, Harper DR, et al. Combined use of bacteriophage K and a novel bacteriophage to reduce *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014;80(21):6694–703.
21. Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, et al. Comparison of Community- and Health Care - Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Journal of the American Medical Association*. 2003;290(22):2976–84.
22. Fernández-Barat L, Ben-Aicha S, Motos A, Vila J, Marco F, Rigol M, et al. Assessment of in vivo versus in vitro biofilm formation of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from endotracheal tubes. *Scientific Reports*. 2018;8(1):1–9.
23. Alvarez C, Labarca J, Salles M. Prevention strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2010;14(SUPPL. 2).
24. Neely AN, Maley MP. Survival of enterococci and staphylococci. *J Clin Microbiol* [Internet].

- 2000;38(2):724–6. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC86187/pdf/jm000724.pdf>
25. Rodríguez-Noriega E, Seas C. The changing pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in latin America: Implications for clinical practice in the region. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2010;14(SUPPL. 2).
 26. da Silva AC, Rodrigues MX, Silva NCC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food and the prevalence in Brazil: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2020;51(1):347–56.
 27. Bernier-Lachance J, Arsenault J, Usongo V, Parent E, Labrie J, Jacques M, et al. Prevalence and characteristics of livestock- associated methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (LA-MRSA) isolated from chicken meat in the province of Quebec, Canada. *PLoS ONE*. 2020;15(1):1–19.
 28. Scherrer JV, Marcon L de N. Formação de biofilme e segurança dos alimentos em serviços de alimentação. *Revista da Associação Brasileira de Nutrição - RASBRAN*. 2016;7:91–9.
 29. Wu Y, Li J, Qiao M, Meng D, Meng Q, Qiao J, et al. Characteristic profiles of biofilm, enterotoxins and virulence of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows in Xinjiang Province, China. *Journal of Veterinary Science*. 2019;20(6):1–14.
 30. Thiran E, Di Ciccio PA, Graber HU, Zanardi E, Ianieri A, Hummerjohann J. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* dairy isolates representing different genotypes. *Journal of Dairy Science* [Internet]. 2018;101(2):1000–12. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13696>
 31. Piechota M, Kot B, Frankowska-Maciejewska A, Gruzewska A, Woźniak-Kosek A. Biofilm Formation by Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* Strains from Hospitalized Patients in Poland. *BioMed Research International* [Internet]. 2018 [cited 2019 Dec 7];2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/4657396>
 32. Zhang K, Du Y, Si Z, Liu Y, Turvey ME, Raju C, et al. Enantiomeric glycosylated cationic block co-beta-peptides eradicate *Staphylococcus aureus* biofilms and antibiotic-tolerant persisters. *Nature Communications*. 2019;10(1):1–14.
 33. Ferreira AM, de Andrade D, de Almeida MTG, Cunha KC, Rigotti MA. Egg crater mattresses: A

- deposit of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? *Revista da Escola de Enfermagem*. 2011;45(1):156–61.
34. Boyce JM. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. *Journal of Hospital Infection*. 2007;65(SUPPL. 2):50–4.
35. Luna CM, Rodriguez- E, Gotuzzo E. Tratamento de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina na América Latina. *Braz J Infect Dis* [Internet]. 2010;14:121–9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-86702010000800007>
36. Elbarbry F. Vancomycin Dosing and Monitoring: Critical Evaluation of the Current Practice. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* [Internet]. 2018 Jun 1;43(3):259–68. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13318-017-0456-4>
37. Javorska L, Krcmova LK, Solichova D, Solich P, Kaska M. Modern methods for vancomycin determination in biological fluids by methods based on high - performance liquid chromatography - A review. 2016;39(1).
38. Martin JH, Norris R, Barras M, Roberts J, Morris R, Doogue M, et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adults: Summary of consensus recommendations from the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy*. 2009;29(11):1275–9.
39. Dombroski V, Silva MMG da, Silveira ME. Monitoramento Terapêutico De Vancomicina Em Uma Unidade De Terapia Intensiva. *Revista Médica da UFPR*. 2015;2(2):67.
40. Delwing MB. Perfil de pacientes em uso de vancomicina internados em uma unidade de terapia intensiva pediátrica em porto alegre. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, PPG em Assistência Farmacêutica; 2015. p. 51.
41. Rybak MJ, Lomaestro BM, Rotschafer JC, Moellering RC, Craig WA, Billeter M, et al. Vancomycin Therapeutic Guidelines: A Summary of Consensus Recommendations from the Infectious Diseases Society of America, the American Society of Health-System Pharmacists, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Clinical Infectious Diseases*. 2009;49(3):325–7.

42. Ma Z, Han J, Chang B, Gao L, Lu Z, Lu F, et al. Membrane-Active Amphipathic Peptide WRL3 with in Vitro Antibiofilm Capability and in Vivo Efficacy in Treating Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Burn Wound Infections. *ACS Infectious Diseases*. 2017;3(11):820–32.
43. Cha Y, Chun J, Son B, Ryu S. Characterization and genome analysis of staphylococcus aureus podovirus csa13 and its anti-biofilm capacity. *Viruses*. 2019;11(1):8–10.
44. Hanke ML, Heim CE, Angle A, Sanderson SD, Kielian T. Targeting Macrophage Activation for the Prevention and Treatment of Staphylococcus aureus Biofilm Infections . *The Journal of Immunology*. 2013;190(5):2159–68.
45. Coronel-León J, Marqués AM, Bastida J, Manresa A. Optimizing the production of the biosurfactant lichenysin and its application in biofilm control. *Journal of Applied Microbiology*. 2016;120(1):99–111.

3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A formação de biofilmes de MRSA nos serviços de saúde, na comunidade e na cadeia de produção de alimentos estão associados as altas taxas de morbimortalidade, pela disseminação de infecções e principalmente pela dificuldade encontrada no tratamento, se tornado um grave problema de saúde pública com o consequente aumento do tempo de internação hospitalar e dos custos do tratamento das infecções associados à assistência médica. Portanto, o conhecimento dos fatores de risco, mecanismos de transmissão, medidas preventivas e da epidemiologia local de MRSA são fundamentais para a prevenção, controle e tratamento de infecções associadas a formação de biofilme de MRSA.

A conscientização da equipe multiprofissional em hospitais e a educação em saúde da comunidade, visto a mudança do perfil epidemiológico do MRSA, se tornam fundamentais para implantação de medidas de prevenção e controle eficazes e viáveis, impedindo a disseminação de cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina associada a formação do biofilme.

Como perspectiva temos o desenvolvimento de novos tratamentos eficazes contra a formação ou remoção do biofilme é essencial para evitar as infecções crônicas e recidivantes associadas ao biofilme de MRSA, pois formam estruturas resistentes aos tratamentos antimicrobianos convencionais, condições ambientais adversas e imunidade do hospedeiro. De acordo com literatura científica, algumas alternativas de tratamento ou complemento a antibioticoterapia de infecções por MRSA associada a formação de biofilme são as chalconas, as bacteriocinas, os bacteriófagos, as endolisinas e exploração de mecanismos imunes do hospedeiro natural e as alternativas propostas para conseguir eliminar os biofilmes de ambiente hospitalar foram o peróxido de hidrogênio e os biosulfactantes.

Em suma, estamos longe de encontrar uma solução para este problema, mas um esforço conjunto de governantes, profissionais da saúde e comunidade, pode ajudar amenizar a situação, através de algumas medidas tais como: ações de vigilância, rapidez no diagnóstico laboratorial correto do agente infeccioso, garantia de acesso ininterrupto aos medicamentos essenciais, regulamentação e promoção do uso racional dos antimicrobianos, aprimoramento de estratégias de prevenção e controle das infecções hospitalares e a promoção, inovação, pesquisa e desenvolvimento de novas terapias e diretrizes terapêuticas atualizadas.

REFERÊNCIAS

- Álvarez A, Fernández L, Gutiérrez D, Iglesias B, Rodríguez A, García P. Methicillin-resistant staphylococcus aureus in hospitals: Latest trends and treatments based on bacteriophages. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57(12):1–8.
- Alvarez C, Labarca J, Salles M. Prevention strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2010;14(SUPPL. 2).
- Alves DR, Gaudion A, Bean JE, Perez Esteban P, Arnot TC, Harper DR, et al. Combined use of bacteriophage K and a novel bacteriophage to reduce *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014;80(21):6694–703.
- Bernier-Lachance J, Arsenault J, Usongo V, Parent E, Labrie J, Jacques M, et al. Prevalence and characteristics of livestock-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus (LA-MRSA) isolated from chicken meat in the province of Quebec, Canada. *PLoS ONE*. 2020;15(1):1–19.
- Boyce JM. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. *Journal of Hospital Infection*. 2007;65(SUPPL. 2):50–4.
- Bozic DD, Milenkovic M, Ivkovic B, Cirkovic I. Newly-synthesized chalcones-inhibition of adherence and biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014;45(1):263–70.
- Cha Y, Chun J, Son B, Ryu S. Characterization and genome analysis of staphylococcus aureus podovirus csa13 and its anti-biofilm capacity. *Viruses*. 2019;11(1):8–10.
- Coronel-León J, Marqués AM, Bastida J, Manresa A. Optimizing the production of the biosurfactant lichenysin and its application in biofilm control. *Journal of Applied Microbiology*. 2016;120(1):99–111.
- Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2003;2(2):114–22.
- Delwing MB. Perfil de pacientes em uso de vancomicina internados em uma unidade de terapia intensiva pediátrica em porto alegre. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2015. p. 51.
- Dombroski V, Silva MMG da, Silveira ME. Monitoramento Terapêutico De Vancomicina Em Uma Unidade De Terapia Intensiva. *Revista Médica da UFPR*. 2015;2(2):67.
- Doulgeraki AI, Di Ciccio P, Ianieri A, Nychas GJE. Methicillin-resistant food-related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology* [Internet]. 2017;168(1):1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2016.08.001>
- Elbarbry F. Vancomycin Dosing and Monitoring : Critical Evaluation of the Current Practice. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* [Internet]. 2017;(1). Available from: <https://doi.org/10.1007/s13318-017-0456-4>
- Engelkirk PG, Engelkirk JD. *Burton Microbiologia para as ciências da saúde*. 9th ed. Rio de

Janeiro: Guanabara Koogan; 2012.

Evangelista S de S, de Oliveira AC. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a global problem. *Revista brasileira de enfermagem*. 2015;68(1):136–43.

Fernández-Barat L, Ben-Aicha S, Motos A, Vila J, Marco F, Rigol M, et al. Assessment of in vivo versus in vitro biofilm formation of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from endotracheal tubes. *Scientific Reports*. 2018;8(1):1–9.

Ferreira AM, de Andrade D, de Almeida MTG, Cunha KC, Rigotti MA. Egg crater mattresses: A deposit of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? *Revista da Escola de Enfermagem*. 2011;45(1):156–61.

Gelatti LC, Becker AP. *Sptphilococcu aureus* resistentes a metcilina- disseminacao emergente na comunidade. *ann Bras Dermatol*. 2009;84(5):501–6.

González S, Fernández L, Gutiérrez D, Campelo AB, Rodríguez A, García P. Analysis of Different Parameters Affecting Diffusion, Propagation and Survival of Staphylophages in Bacterial Biofilms. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9(September):1–13.

Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenese of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2008;46:359–359.

Hanke ML, Heim CE, Angle A, Sanderson SD, Kielian T. Targeting Macrophage Activation for the Prevention and Treatment of *Staphylococcus aureus* Biofilm Infections . *The Journal of Immunology*. 2013;190(5):2159–68.

Javorska L, Krcmova LK, Solichova D, Solich P, Kaska M. Modern methods for vancomycin determination in biological fluids by methods based on high - performance liquid chromatography - A review. 2016;39(1).

Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical microbiology reviews*. 2018;31(4):1–103.

Lauderdale KJ, Malone CL, Boles BR, Morcuende J, Horswill AR. Biofilm dispersal of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on orthopedic implant material. *Journal of Orthopaedic Research*. 2010;28(1):55–61.

Li XH, Lee JH. Antibiofilm agents: A new perspective for antimicrobial strategy. *Journal of Microbiology*. 2017;55(10):753–66.

Luna CM, Rodriguez- E, Gotuzzo E. Tratamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. *Braz J Infect Dis [Internet]*. 2010;14:121–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-86702010000800007>

McCarthy H, Rudkin JK, Black NS, Gallagher L, O'Neill E, O'Gara JP. Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2015;5(January):1–9.

Ma Z, Han J, Chang B, Gao L, Lu Z, Lu F, et al. Membrane-Active Amphipathic Peptide

WRL3 with in Vitro Antibiofilm Capability and in Vivo Efficacy in Treating Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Burn Wound Infections. *ACS Infectious Diseases*. 2017;3(11):820–32.

Martin JH, Norris R, Barras M, Roberts J, Morris R, Doogue M, et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adults: Summary of consensus recommendations from the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy*. 2009;29(11):1275–9.

Monteiro Sales L, da Silva T. *Staphylococcus aureus* Meticilina Resistente: Um Desafio para a Saúde Pública. *Acta Biomedica Brasiliensia*. 2012;3(1):1–13.

Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, et al. Comparison of Community- and Health Care - Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Journal of the American Medical Association*. 2003;290(22):2976–84.

Neely AN, Maley MP. Survival of enterococci and staphylococci. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2000;38(2):724–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC86187/pdf/jm000724.pdf>

Neopane P, Nepal HP, Shrestha R, Uehara O, Abiko Y. In vitro biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from wounds of hospital-admitted patients and their association with antimicrobial resistance. *International Journal of General Medicine*. 2018;11:25–32.

Okuda KI, Zendo T, Sugimoto S, Iwase T, Tajima A, Yamada S, et al. Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013;57(11):5572–9.

Piechota M, Kot B, Frankowska-Maciejewska A, Gruzewska A, Woźniak-Kosek A. Biofilm Formation by Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* Strains from Hospitalized Patients in Poland. *BioMed Research International* [Internet]. 2018 [cited 2019 Dec 7];2018. Available from: <https://doi.org/10.1155/2018/4657396>

Raval YS, Mohamed A, Zmuda HM, Patel R, Beyenal H. Hydrogen-Peroxide-Generating Electrochemical Scaffold Eradicates Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilms . *Global Challenges*. 2019;3(6):1800101.

Rodríguez-Noriega E, Seas C. The changing pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in latin America: Implications for clinical practice in the region. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2010;14(SUPPL. 2).

Rybak MJ, Lomaestro BM, Rotschafer JC, Moellering RC, Craig WA, Billeter M, et al. Vancomycin Therapeutic Guidelines: A Summary of Consensus Recommendations from the Infectious Diseases Society of America, the American Society of Health-System Pharmacists, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Clinical Infectious Diseases*. 2009;49(3):325–7.

Scherrer JV, Marcon L de N. Formação de biofilme e segurança dos alimentos em serviços de alimentação. *Revista da Associação Brasileira de Nutrição - RASBRAN*. 2016;7:91–9.

- da Silva AC, Rodrigues MX, Silva NCC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food and the prevalence in Brazil: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2020;51(1):347–56.
- Thiran E, Di Ciccio PA, Graber HU, Zanardi E, Ianieri A, Hummerjohann J. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* dairy isolates representing different genotypes. *Journal of Dairy Science* [Internet]. 2018;101(2):1000–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13696>
- Vergara A, Normanno G, Di Ciccio P, Pedonese F, Nuvoloni R, Parisi A, et al. Biofilm Formation and Its Relationship with the Molecular Characteristics of Food-Related Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Food Science* [Internet]. 2017 Oct [cited 2019 Dec 7];82(10):2364–70. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.13846>
- Winn Jr. W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. *Koneman Diagnóstico Microbiológico*. 6th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
- WHO - World Health Organization. *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance*. World Health Organization, Geneva, 2014
- Wu Y, Li J, Qiao M, Meng D, Meng Q, Qiao J, et al. Characteristic profiles of biofilm, enterotoxins and virulence of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows in Xinjiang Province, China. *Journal of Veterinary Science*. 2019;20(6):1–14
- Yewale VN. Antimicrobial resistance - A ticking bomb! Vol. 51, *Indian Pediatrics*. 2014. p. 171–2.
- Zhang K, Du Y, Si Z, Liu Y, Turvey ME, Raju C, et al. Enantiomeric glycosylated cationic block co-beta-peptides eradicate *Staphylococcus aureus* biofilms and antibiotic-tolerant persisters. *Nature Communications*. 2019;10(1):1–14.

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ



Instruções aos Autores

Instruções aos Autores Os manuscritos submetidos à publicação na RIAL devem ser apresentados de acordo com as Instruções aos Autores. São aceitos manuscritos nos idiomas: português ou inglês. O manuscrito deve ser encaminhado em formato eletrônico (e-mail), aos cuidados do editor-chefe da RIAL, no seguinte endereço: rial@saude.sp.gov.br.

Os itens exigidos para apresentação do manuscrito estão descritos a seguir:

1. Categoria de Artigos

1.1 Artigos Originais: incluem estudos relacionados à prevenção e controle de agravos e à promoção à saúde. Devem ser baseados em dados originais e perspectivas relevantes para saúde pública. Cada artigo deve conter objetivos e hipóteses claras, desenho e métodos utilizados, resultados, discussão e conclusões.

Informações Complementares

Devem conter no máximo 6000 palavras, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências. Tabelas, figuras, gráficos e fotos, são limitados a 5 (cinco) no conjunto, e devem incluir apenas os dados imprescindíveis em arquivos separados. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. As referências bibliográficas, limitadas a 50, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas. Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 200 palavras, com a indicação de 3 a 6 palavras chave (*keywords*). A estrutura dos artigos originais de pesquisa é a convencional: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão, respeitando a lógica da estrutura de artigos científicos.

A estrutura dos artigos originais de pesquisa é a convencional: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão, respeitando a lógica da estrutura de artigos científicos.

1.2 Artigos de Revisão: dedicados à apresentação e à discussão de temas de interesse científico e de relevância para a saúde pública. Devem apresentar formulação clara de um objeto científico de interesse, argumentação lógica, crítica teórico-metodológica dos trabalhos consultados e síntese conclusiva.

Informações complementares

Devem conter no máximo 7500 palavras, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências. Tabelas, figuras, gráficos e fotos, são limitados a 3 (três) no conjunto, e devem incluir apenas os dados imprescindíveis em arquivos separados. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas.

As referências bibliográficas, limitadas a 80, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas. Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 200 palavras, com a indicação de 3 a 6 palavras chave (*keywords*).

1.3 Comunicações Breves: são contribuições de importância no campo da pesquisa de interesse em saúde pública, mas que não comportam pela sua complexidade e extensão uma análise mais abrangente. Serão consideradas, também, nesta categoria descrições de novos métodos ou técnicas que tragam avanços para a área de conhecimento.

Informações complementares

Devem conter no máximo 3000 palavras, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências. Tabelas, figuras, gráficos e fotos, são limitados a 2 (dois) no conjunto, e devem incluir apenas os dados imprescindíveis em arquivos separados. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. As referências bibliográficas, limitadas a 15, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser

evitadas. Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 200 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*). Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais.

1.4 Notas Científicas: são relatos sucintos destinados à rápida divulgação de resultados relevantes, com reconhecido impacto para a comunidade científica, que justifique a publicação de resultados parciais a critério do corpo editorial.

Informações complementares

Devem conter no máximo 1800 palavras, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências. Tabelas, figuras, gráficos e fotos, são limitados a 2 (dois) no conjunto, e devem incluir apenas os dados imprescindíveis em arquivos separados. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. As referências bibliográficas, limitadas a 10, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas. Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 100 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*). Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para comunicação breve, porém na forma de texto único.

1.5 Comentários Técnico-Científicos: contribuições de interesse em saúde pública destinadas a veiculação de informações científicas e tecnológicas comentadas e discutidas sob o ponto de vista dos seus autores, podendo ser de natureza individual ou institucional.

Informações complementares

Devem conter no máximo 1800 palavras, excluindo resumos e referências. As referências bibliográficas, limitadas a 30, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas. Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 100 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*). Sua apresentação deve ser na forma de texto único.

1.6 Relatos de Caso: são textos que contemplam principalmente as áreas médica e veterinária, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Informações complementares

Devem conter no máximo 1000 palavras, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências. Tabelas, figuras, gráficos e fotos, são limitados a 2 (dois) no conjunto, e devem incluir apenas os dados imprescindíveis em arquivos separados. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. As referências bibliográficas, limitadas a 10, devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas. Os resumos em português e em inglês (*abstract*) devem ter até 100 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*). Devem apresentar Introdução, Relato de caso, Discussão e Conclusão, na forma de texto único.

1.7 Resumos de Teses e Dissertações: são aceitos resumos de teses e dissertações até um ano após a defesa.

Informações complementares

Devem ter até 400 palavras e devem ter entre 3 a 6 palavras-chave (*keywords*). Sua apresentação deve conter o nome do autor e do orientador, título do trabalho em português e em inglês, nome da instituição em que foi apresentado, área de concentração, ano da defesa e endereço eletrônico onde a tese/dissertação está disponível.

2. Apresentação do manuscrito

Os textos devem ser redigidos em processador de texto Word ou compatível, no formato A4, espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12. As tabelas e as legendas destas e de figuras devem utilizar fonte Times New Roman, tamanho 10, e as notas de rodapé a fonte Times New Roman, tamanho 9. Devem ser evitados arquivos compactados (zip). A estrutura do manuscrito deve estar em conformidade com as normas do Sistema Vancouver – Título; Autores e Instituições; Resumo e Abstract; Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão; Conclusão; Agradecimentos; Referências; Tabelas; Figuras e Fotografias.

2.1 Página de Identificação

Deve constar na página de identificação:

Título em português e em inglês: o título, limitado a 180 caracteres com espaço, deve ser conciso e conter informações que expresse o conteúdo do manuscrito; se o mesmo for submetido em inglês, deve ser informada a tradução do título em português.

Autores: são considerados autores, aqueles que contribuíram substancialmente para a concepção e planejamento, ou análise e interpretação dos dados; contribuíram significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo e participaram da aprovação da versão final do mesmo, de acordo com o *International Committee of Medical Journal Editors*– ICMJE – (<http://www.icjme.org>). Deve constar o nome completo, sem abreviações e com o último sobrenome em caixa alta (exemplo: Ana Maria Camargo da SILVA) e o e-mail do autor responsável. O autor responsável pela troca de correspondência deve estar assinalado com asterisco (*) e apresentar também o endereço institucional completo.

Afiliação: deve ser indicada a instituição à qual cada autor está afiliado, na seguinte ordem de hierarquias institucionais de afiliação: laboratório, setor, seção, serviço, divisão, departamento, instituto, faculdade e universidade. Não incluir cargos e funções dos autores.

Financiamento da pesquisa: se a pesquisa foi subvencionada, indicar o tipo de auxílio, o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo no final do artigo.

Nota de apresentação: quando baseado em tese ou dissertação, indicar o nome do autor, título, ano, nome do programa de pós-graduação e instituição onde foi apresentada. Quando apresentado em evento científico, indicar o nome do evento, local e ano da realização. Nas duas situações indicar a informação no final do artigo.

2.2 Preparo do manuscrito

Resumo/Abstract: todos os textos deverão ter resumos em português e inglês, dimensionados conforme a categoria do artigo. Como regra geral, o resumo deve incluir objetivos do estudo, principais procedimentos metodológicos, principais resultados e conclusões.

Palavras-chave/Keywords: Devem ser indicados entre 3 a 6 descritores do conteúdo, extraídos do vocabulário Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da Bireme (disponível em <http://www.bireme.br>) nos idiomas português e inglês. Em inglês, com base no Medical Subject Headings (MeSH). Caso não sejam encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos não existentes nos conjuntos citados, limitados a um terço do total dos descritores.

Estrutura do texto

A) Introdução: deve ser breve, relatando o contexto e a justificativa do estudo, apoiados em referências pertinentes ao objetivo do manuscrito, sintetizando a importância e destacando as lacunas do conhecimento abordadas. Não deve incluir dados ou conclusões do estudo em referência

B) Material e Métodos: os procedimentos adotados devem ser descritos claramente, bem como as variáveis analisadas, com a respectiva definição, quando necessária, e a hipótese a ser testada. Devem ser descritas a população e a amostra, instrumentos de medida, com a apresentação, se possível, de medidas de validade e conter informações sobre a coleta e processamento de dados. Deve ser incluída a devida referência para os métodos e técnicas empregados, inclusive os métodos estatísticos; métodos novos ou substancialmente modificados devem ser descritos, justificando as razões para seu uso e mencionando suas limitações. Os critérios éticos da pesquisa devem ser respeitados; os autores devem explicitar que a pesquisa foi conduzida dentro de padrões éticos e foi aprovada por comitê de ética, indicando o nome do comitê de ética, número e data do registro.

C) Resultados: devem ser apresentados em uma sequência lógica, iniciando-se com a descrição dos dados mais importantes. Tabelas e figuras devem ser restritas àquelas necessárias para argumentação e a descrição dos dados no texto deve ser restrita aos mais importantes. Os gráficos devem ser utilizados para destacar os resultados mais relevantes e resumir relações complexas. Dados em gráficos e tabelas não devem ser duplicados nem repetidos no texto. Os resultados numéricos devem especificar os métodos estatísticos utilizados na análise.

D) Discussão: a partir dos dados obtidos e resultados alcançados, os novos e importantes aspectos observados devem ser interpretados à luz da literatura científica e das teorias existentes no campo. Argumentos e provas baseadas em comunicação de caráter pessoal ou divulgadas em documentos restritos não podem servir de apoio às argumentações do autor. Tanto as limitações do trabalho quanto suas implicações para futuras pesquisas devem ser esclarecidas. Incluir somente hipóteses e generalizações baseadas nos dados do trabalho. As conclusões podem finalizar esta parte, retomando o objetivo do trabalho ou serem apresentadas em item separado.

E) Agradecimentos: este item é opcional e pode ser utilizado para mencionar os nomes de pessoas que, embora não preencham os requisitos de autoria, prestaram colaboração ao trabalho. Será preciso explicitar o motivo do agradecimento, por exemplo, consultoria científica, revisão crítica do manuscrito, coleta de dados etc. Deve haver permissão expressa

dos nomeados e o autor responsável deve anexar a Declaração de Responsabilidade pelos Agradecimentos. Também pode constar desta parte apoio logístico de instituições.

2.3 Citação no texto: a exatidão das referências é de responsabilidade dos autores. Devem ser indicadas pelo seu número na listagem, na forma de expoente, sem uso de parênteses, colchetes e similares. Nos casos em que há citação do nome do autor, o número da referência deve ser colocado a seguir do nome do autor. Trabalhos com dois autores devem fazer referência aos dois autores ligados por “e”. Nos outros casos apresentar apenas o primeiro autor (seguido de et al, em caso de autoria múltipla).

Exemplos Nos Estados Unidos e Canadá, a obrigatoriedade da declaração dos nutrientes no rótulo do alimento é mais antiga e foram desenvolvidos métodos hidrolíticos, como o AOAC 996.061, de extração e determinação da GT por cálculo a partir dos AG obtidos por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC/DIC) .

Segundo Chang et al , o aumento do tamanho das partículas resulta numa redução da área de superfície conferindo uma melhora na retenção e estabilidade das mesmas.

2.4 Referências: listadas ao final do texto, devem respeitar a quantidade definida para cada categoria de artigos aceitos pela RIAL. As referências devem ser normalizadas de acordo com o estilo *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication*, numeradas consecutivamente na ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o Medline, disponível no endereço <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals>. Para consultar periódicos nacionais e latino-americanos: <http://portal.revistas.bvs.br/main.php?home=true&lang=pt>. No caso de publicações com até seis autores, citam-se todos; acima de seis, citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al”. Referências de um mesmo autor devem ser organizadas em ordem cronológica crescente. Quando existente, incluir o endereço eletrônico contendo o (doi) na citação do artigo para a recuperação do documento.

Exemplos

Artigos de periódicos: Aued-Pimentel S, Zenebon O. Lipídios totais e ácidos graxos na informação nutricional do rótulo dos alimentos embalados: aspectos sobre legislação e quantificação. Rev Inst Adolfo Lutz. 2009;68(2):121-6.

Conde MB, Melo FAF, Marques AMC, Cardoso NC, Pinheiro VGF, Dalcin PTR et al. III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. J Bras Pneumol. 2009;35(10):1018-48. <https://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132009001000011>.

Lindsay RP, Shin SS, Garfein RS, Rusch MLA, Novotny TE. The association between active and passive smoking and latent tuberculosis infection in adults and children in the United States: results from NHANES. PLoS One. 2014; 9(3): e93137. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0093137>.

Hennington EA. Acolhimento como prática interdisciplinar num programa de extensão. Cad Saude Coletiva [Internet]. 2005;21(1):256-65. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/csp/v21n1/28.pdf>.

Livros:

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

Lopez D, organizador. Estudos epidemiológicos qualitativos. São Paulo: James Martim; 2009.

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington (DC): The Institute; 1992.

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer. Washington: National Academy Press; 2001[acesso 2003 Jul 13]. Disponível em: http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10149.

Capítulos de livro:

Wirhdh L. História da Epidemiologia. In: Lopez D, organizador. Estudos epidemiológicos qualitativos. São Paulo: James Martim; 2009.p.64-76.

Dissertações, teses e monografias:

Santos EP. Estabilidade química da manteiga da terra [dissertação de mestrado]. Bananeiras (PB): Universidade Federal da Paraíba;1995.

Moreschi ECP. Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos e avaliação da estabilidade de vitaminas hidrossolúveis em alimentos [tese de doutorado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2006.

Trabalhos de congressos, simpósios, encontros, seminários e outros:

Colombo FA, Vidal JE, Oliveira ACP, Focaccia R, Pereira-Chioccola VL. O uso de métodos moleculares na avaliação do diagnóstico da toxoplasmose cerebral em pacientes com AIDS. III Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública; agosto de 2004; São Paulo: Rev Inst Adolfo Lutz. p. 30 [resumo 28-PLSP].

Dados eletrônicos:

Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – SABESP. O que fazemos/Qualidade da água. [acesso 2008 Set 17]. Disponível em: <http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=sabesp&pub=T&db=&doci>.

Legislação: Ministério da Saúde (BR).

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 18, de 27 de abril de 2010. Dispõe sobre alimentos para atletas. Aprova o Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 28 abr 2010. Seção 1(79):211-2.

Autoria institucional:

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4. ed. [1. ed. digital]. São Paulo (SP): Instituto Adolfo Lutz; 2008. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf.

Organización Mundial de la Salud – OMS. Como investigar el uso de medicamentos em los servicios de salud. Indicadores seleccionados del uso de medicamentos. Ginebra; 1993. (DAP. 93.1).

Patente:

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors: Novoste Corporation, assignee. Methods for procedures related to eletrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 Jun 25.

Casos não contemplados nesta instrução devem ser citados conforme indicação em:

Patrias K, Wendling D, Technical Editor. The NLM Style Guide for Authors, Editors, and Publishers. Citing Medicine. 2.ed. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>. Referências a documentos não indexados na literatura científica mundial, em geral de divulgação circunscrita a uma instituição ou a um evento (teses, relatórios de pesquisa, comunicações em eventos, dentre outros) e informações extraídas de documentos eletrônicos, não mantidas permanentemente em sites, se relevantes, devem figurar no rodapé das páginas do texto onde foram citadas.

2.5 Números de figuras e tabelas: a quantidade de figuras e tabelas de cada manuscrito deve respeitar a quantidade definida para cada categoria de artigos aceitos pela RIAL. Todos os elementos gráficos ou tabulares apresentados serão identificados como figura ou tabela, e não como quadros, gráficos etc. Figuras e tabelas serão numeradas separadamente, na sequência, a partir de um.

A) Tabelas: Devem ser redigidas em processador de texto Word ou compatível e serem apresentadas em arquivos separados, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. A cada uma deve-se atribuir um título breve, não se utilizando traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser limitadas ao menor número possível e colocadas no rodapé das tabelas, e redigidas com a fonte Times New Roman tamanho 9. Se houver tabela extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que a publicou, para sua reprodução.

B) Figuras: As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos etc.) devem ser citadas como Figuras, apresentadas em arquivos separados e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na ordem em que foram citadas no texto. Devem conter título e legenda apresentados na parte inferior da figura. Só serão admitidas para publicação as figuras suficientemente claras e com qualidade digital, no formato jpeg ou tif, com resolução mínima de 300 dpi. Figuras em pdf só serão aceitas em alta resolução (300 dpi). Se houver figura extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar autorização, por escrito, para sua reprodução.

3. Declarações e documentos solicitados

Em conformidade com as diretrizes do *International Committee of Medical Journal Editors*, são solicitados alguns documentos e declarações do(s) autor(es) para a avaliação de

seu manuscrito. Observe a relação dos documentos abaixo e, nos casos em que se aplique, anexe o documento ao processo. O momento em que tais documentos serão solicitados é variável:

Documento/declaração	Quem assina	Quando anexar
Carta de Apresentação	Todos	Submissão
Responsabilidade pelos Agradecimentos	Autor responsável	Aprovação
Transferência de Direitos Autorais	Todos	Aprovação

A carta de Apresentação do manuscrito deve conter:

A indicação da categoria do artigo em submissão. Assinatura de todos os autores e os respectivos endereços eletrônicos. Um parágrafo declarando a responsabilidade de cada autor: ter contribuído substancialmente para a concepção e planejamento ou análise e interpretação dos dados; ter contribuído significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo; e ter participado da aprovação da versão final do manuscrito. Para mais informações sobre critérios de autoria, consulte a página do ICMJE (<http://www.icjme.org>). Um parágrafo contendo a declaração de potenciais conflitos de interesses dos autores. Um parágrafo contendo a declaração que o trabalho não foi publicado, parcial ou integralmente, em outro periódico e que não se trata de plágio ou autoplágio. Todos os autores devem ler, assinar e enviar documento transferindo os direitos autorais. O artigo só será liberado para publicação quando esse documento estiver em posse da RIAL. Indicação de até três revisores, com afiliação e endereço eletrônico para contato.

4. Verificação dos itens exigidos na submissão

- a. Nome e instituição de afiliação de cada autor, incluindo endereço eletrônico e telefone do autor responsável.
- b. Título do manuscrito, em português e inglês.
- c. Texto apresentado em fonte Times New Roman, tamanho 12, em formato Word ou similar (doc, txt, rtf).
- d. Resumos em português e em inglês.
- e. Carta de Apresentação assinada por todos os autores.
- f. Nome da agência financiadora e número(s) do processo(s).
- g. No caso de artigo baseado em tese/dissertação, indicar o nome da instituição/Programa, grau e o ano de defesa.
- h. Referências normalizadas segundo estilo Vancouver, ordenadas pela citação no texto e numeradas; verificar se todas estão citadas no texto.

i. Tabelas numeradas sequencialmente, com título em fonte Times New Roman, tamanho 10 e notas em fonte Times New Roman, tamanho 9, e no máximo com 12 colunas, em formato Word ou similar (doc, txt, rtf).

j. Figura nos formatos (tif, jpeg ou pdf), com resolução mínima 300 dpi.

5. Avaliação preliminar

Os manuscritos submetidos serão analisados inicialmente pelos editores quanto ao escopo, à redação científica, gramatical e ao atendimento às normas da RIAL. A baixa qualidade da redação acarretará na devolução do trabalho para revisão da linguagem pelo(s) autor(es) antes de iniciar o processo de submissão.

6. Avaliação por pares

Os manuscritos selecionados serão encaminhados para avaliação por relatores da área pertinente. Após receber os pareceres, o Corpo Editorial, que detém a decisão final sobre a publicação ou não do texto, avalia a sua aceitação sem modificações, a recusa ou a devolução ao(s) autor(es) com as sugestões apontadas pelos relatores. Caso sejam solicitadas modificações, o(s) autor(es) tem o prazo de até três semanas para reenviar o trabalho, para continuidade da avaliação.

7. Revisão de estilo

Após sua aprovação pelos editores, o manuscrito será submetido à revisão de estilo em língua portuguesa e/ou inglesa. A RIAL se reserva o direito de introduzir alterações nos originais, visando a manutenção da homogeneidade e qualidade da publicação, respeitando, porém, o estilo e as opiniões dos autores.

8. Provas

O manuscrito, revisado e aprovado, será encaminhado para diagramação. O autor responsável pela correspondência receberá as provas gráficas para revisão, em formato pdf (portable document format), por correio eletrônico. O Corpo Editorial poderá solicitar figuras com melhor resolução, caso seja necessário. Nesta fase, não serão aceitas mudanças no conteúdo do trabalho. O prazo máximo para a revisão da prova é de dois dias. É importante cumprir os prazos de revisão para evitar atrasos e garantir a publicação na sequência programada do volume.

9. Publicação

A partir de 2016 a RIAL adotou o sistema de publicação continuada em volume único. Os artigos serão publicados online no Portal do Instituto Adolfo Lutz <http://www.ial.sp.gov.br> em ordem cronológica de aprovação. As datas de recebimento e de aprovação do artigo constarão obrigatoriamente na publicação. Textos completos com acesso livre serão disponibilizados no Portal de Revistas em Veterinária e Zootecnia <http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz>, Portal LILACS <http://lilacs.bvsalud.org/>, BVS Rede de Informação e Conhecimento <http://ses.sp.bvs.br/>.

É permitida a reprodução, no todo ou em parte, de artigos publicados na RIAL, desde que sejam indicados a origem e o nome do autor, em conformidade com a legislação sobre os direitos autorais.