

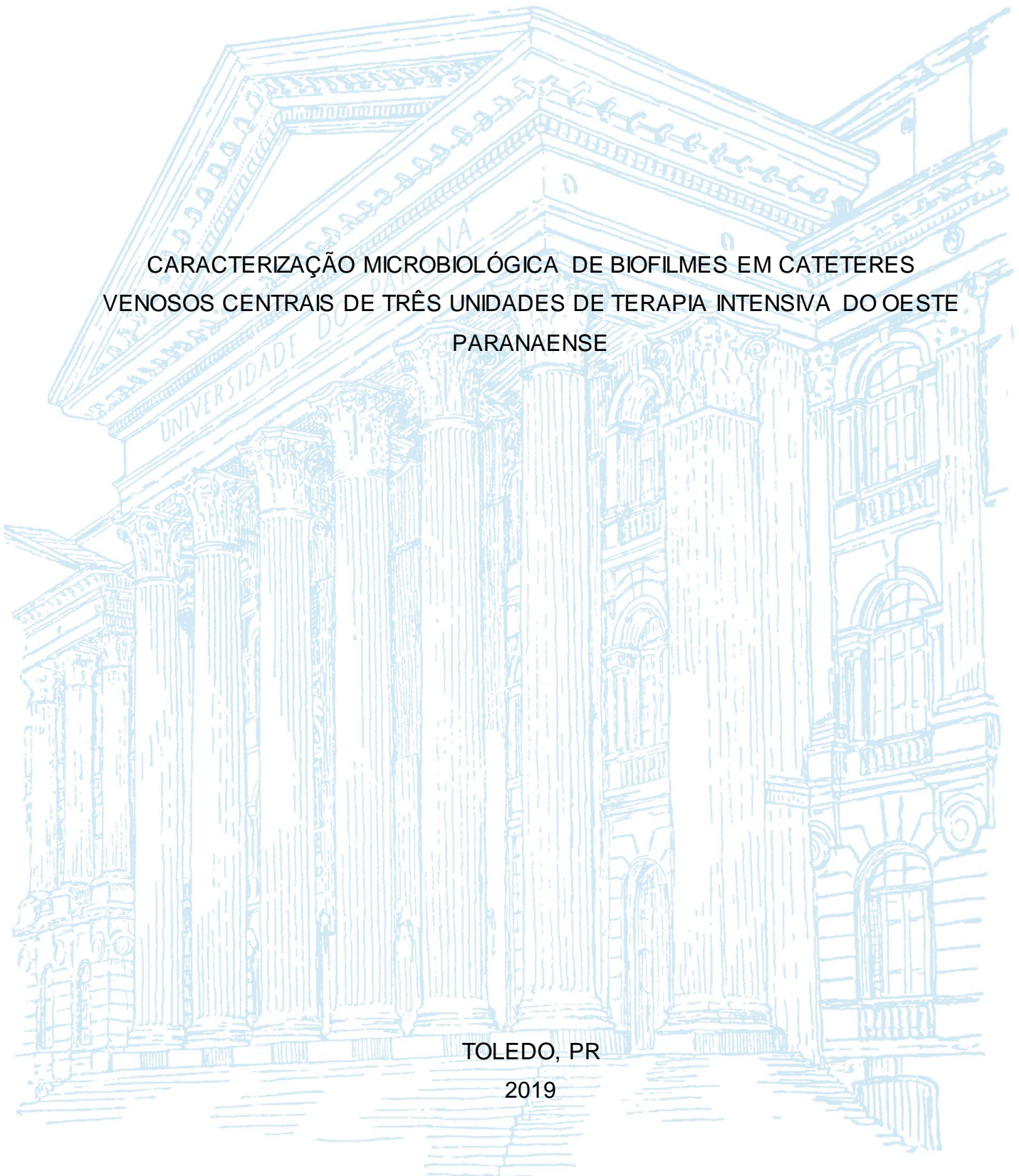
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

OTÁVIO AUGUSTO SCARIOTTO

CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BIOFILMES EM CATETERES  
VENOSOS CENTRAIS DE TRÊS UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA DO OESTE  
PARANAENSE

TOLEDO, PR

2019



OTÁVIO AUGUSTO SCARIOTTO

CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BIOFILMES EM CATETERES  
VENOSOS CENTRAIS DE TRÊS UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA DO OESTE  
PARANAENSE

Trabalho de curso apresentado ao curso de medicina da Universidade Federal do Paraná-Campus Toledo, como requisito parcial de obtenção do título de Bacharel em medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Bernardi Wenzel

TOLEDO, PR

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S285 Scariotto, Otávio Augusto  
Caracterização microbiológica de biofilmes em cateteres  
venosos centrais de três unidades de terapia intensiva do oeste  
paranaense / Otávio Augusto Scariotto. - Toledo, 2019.  
70f.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) --  
Universidade Federal do Paraná, Campus Toledo, Bacharel em  
Medicina.  
Orientador: Prof. Drª Juliana Bernardi Wenzel.

1. Biofilme. 2. Infecção de Cateter. 3. Infecção Hospitalar  
I. Scariotto, Otávio Augusto. II. Wenzel, Juliana Bernardi.  
III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

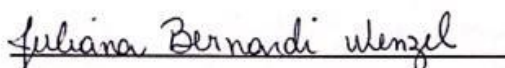
CDU 616.9

**TERMO DE APROVAÇÃO**

**OTÁVIO AUGUSTO SCARIOTTO**

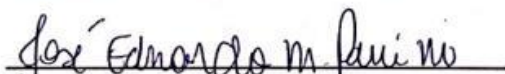
**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BIOFILMES EM CATETERES  
VENOSOS CENTRAIS DE TRÊS UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA DO  
OESTE PARANAENSE**

TC apresentado ao curso de medicina, da Universidade Federal do Paraná-Campus Toledo, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em medicina.



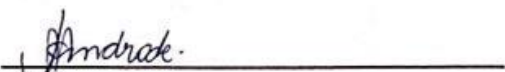
Prof(a) Dra. Juliana Bernardi Wenzel

Orientador(a) – Departamento Curso de Medicina - Toledo, UFPR



Prof(a) José Eduardo Mainart Panini

Departamento Curso de Medicina - Toledo, UFPR



Prof(a) Msc. Sônia Mara de Andrade

Departamento Curso de Medicina - Toledo, UFPR

Toledo, 21 de novembro de 2019.

Dedico este trabalho a meu querido pai (in memoriam), que fora minha fonte de serenidade durante os anos que se passaram e que não pôde acompanhar minha jornada acadêmica. Que essa pesquisa traga alguma contribuição para que outros não tenham o mesmo desfecho que ti.

A meus familiares e amigos, por trazerem sentido a minha existência e luz ao meu Sol Interior. A minha querida T1, a primeira turma do curso de Medicina da Universidade Federal do Paraná – campus Toledo, por desbravarem essa cidade e compartilharem da minha vontade de oferecer qualidade de vida às pessoas.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço ao Universo, por me dar o alento e o equilíbrio necessários para que esse projeto fosse concluído com qualidade.

Gratidão à minha orientadora Profa. Dra. Juliana Bernardi, por ter me conduzido durante toda a realização dessa pesquisa, com muita paciência, disponibilidade e sabedoria, e por todo o conhecimento compartilhado.

Gratidão a todos os meus professores, por fazerem com que eu me apaixonasse cada vez mais pela profissão que escolhi.

Gratidão à minha querida mãe, que me ensinou a ter persistência e autoconfiança. À minha irmã Mônica, por ser minha consultora na pesquisa bibliográfica e na parte escrita desse trabalho. Às minhas irmãs Tatiana e Leticia que, embora não tenham me auxiliado na pesquisa diretamente, com certeza ajudaram na formação de quem eu sou hoje.

Gratidão à minha grande amiga Giulia Pietra, por ser minha consultora em gramática e por sempre ter me incentivado a perseguir meus sonhos.

Gratidão aos meus amigos da faculdade Taísa, Victória, Juliana Lisboa, Louise, Ana Flávia, Nicolas, Carlos Eduardo e Luana, por se tornarem a melhor companhia durante esses quatro anos de faculdade que se passaram tão depressa.

Gratidão à Cinthia Wendel, por toda a ajuda na parte técnica no Laboratório de Microbiologia.

Gratidão ao veterinário Rafael Luiz, pela boa vontade de nos ajudar inúmeras vezes na coleta de sangue dos carneirinhos para a pesquisa.

Por fim, gratidão a todos os carneirinhos que doaram seu sangue por essa pesquisa.

*“Nossa capacidade de compreender a realidade, de observar em profundidade fica comprometida se não nos questionarmos.” (Monja Coen, 2019)*

## SUMÁRIO

|                               |           |
|-------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>           | <b>9</b>  |
| <b>2 ARTIGO</b>               | <b>13</b> |
| <b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> | <b>51</b> |
| <b>4 REFERÊNCIAS</b>          | <b>52</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Biofilmes são comunidades formadas por micro-organismos imersos em uma matriz extracelular polimérica. Estes seres formam complexas colônias que se aderem a uma superfície – biótica ou abiótica – e funcionam como um microambiente onde bactérias, fungos ou algas vivem e se reproduzem (FLEMMING; WINGENDER, 2010). Quem primeiro utilizou o termo “biofilme” foi John William Costerton (1978) em seu trabalho “*How bacteria stick*”, para definir a forma de vida microbiana coletiva que havia identificado na superfície de lagos.

Os biofilmes configuram o mecanismo de patogenicidade de diversas infecções, como a complicação de fibrose cística por *Pseudomonas aeruginosa*, a periodontite, a gengivite por placa bacteriana dentária e as feridas crônicas. Também são conhecidos por colonizar dispositivos médicos, que são instrumentos usados na prática clínica para diagnosticar, prevenir e tratar enfermidades. Os maiores exemplos são próteses articulares, valvas cardíacas protéticas, cateteres vesicais e também cateteres venosos centrais (CVC), que quando colonizados por biofilmes, predispõem a quadros infecciosos (RABIN et al., 2015).

Os CVC são dispositivos usados na terapia intensiva, de comprimento entre 15 e 30 centímetros, que têm a finalidade de permitir acesso a veias de grosso calibre (veias subclávia, jugular interna e femoral). Por esses dispositivos são administradas soluções, medicamentos e outros fluidos ao enfermo (MARINO, 2015).

O problema é que os CVC, como dispositivos médicos de uso interno, são suscetíveis à formação de biofilmes microbianos e ocasionalmente levam a infecções associadas. Isso resulta em uma das maiores causas de morbidade e mortalidade entre pacientes de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), em retirada precoce de cateteres, em maior tempo de permanência hospitalar e em aumento nos custos por uso de recursos (PÉREZ-ZÁRATE et al., 2015).

Desde a década de 90, muitos cateteres são impregnados com antibióticos, como sulfadiazina de prata, clorexidina ou minociclina associado à rifampicina (WASSIL et al., 2007). Lai et al. (2016) apontam que a impregnação dos CVC com antimicrobianos tem eficácia contra o desenvolvimento de grande parte das infecções sanguíneas relacionadas a cateteres. No entanto, essas infecções ainda são prevalentes, o que pode ser explicado pela resistência dos biofilmes a

antimicrobianos. De acordo com Flemming e Wingender (2010), as substâncias poliméricas extracelulares dos biofilmes permitem melhor adesão à superfície e agregação de células bacterianas, além de servir como barreira mecânica de proteção contra agentes antimicrobianos.

Brito et al. (2007) indicam que as principais fontes de colonização microbiana de CVC são a pele da região em que esses são inseridos e o próprio dispositivo intravenoso, contaminado devido ao manuseio pelo profissional da saúde. Capdevila (1998) também descreveu que cerca de 50% dessas infecções se originam pela colonização da pele, 40% pela contaminação do cateter e 10% por outros meios, como contaminação da infusão administrada ao paciente. Tendo em vista que muitas vezes os micro-organismos da pele são a fonte de infecção do cateter, a pele deve receber antissepsia adequada antes da inserção do dispositivo (MIMOZ, 2016).

A maioria dos biofilmes é formada por bactérias, que assim se protegem contra agressões externas (LEMON, 2008). Por comporem a microbiota permanente e transitória da pele (EDWARDS et al., 2008), os estafilococos são os micro-organismos mais relacionados a colonização dos CVC (JAN-ROBLERO et al, 2016). Esse gênero de bactéria também possui a vantagem de formar biofilmes na superfície do dispositivo (HALL-STOODLEY, 2004).

Entre os micro-organismos colonizadores de CVC encontram-se primeiramente bactérias Gram positivas, seguidas de bactérias Gram negativas e fungos. Dentre as espécies mais encontradas, destacam-se os *Staphylococcus* coagulase-negativos, seguidos por *S. aureus*, *Enterococcus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *P. aeruginosa* e *Candida* (ATELA et al.,1997; BRITO et al., 2007; LORENTE et al., 2005; Donlan, 2008; SADOYAMA; FILHO, 2003).

Embora a prevalência de bactérias na formação de biofilmes em cateteres seja maior, a identificação de fungos nesses dispositivos é significativa. As hifas do gênero *Candida* (como *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*) são de grande importância clínica na colonização e infecção dos CVCs. Esses micro-organismos formam biofilmes na superfície do material, assim apresentam maior resistência a antifúngicos (HAWSER; DOUGLAS, 1994). Andes et al. (2004) apontam que os fungos do gênero *Candida* (principalmente *C. albicans*) têm grande relevância na taxa de mortalidade por infecção de cateteres devido à resistência a antifúngicos. Mais recentemente, Arias et al. (2017) expõem que o uso do cateter venoso central

é a justificativa de vários casos de candidemia, e a conduta certa é a retirada do CVC e o início de terapia antifúngica no paciente. Um estudo prospectivo de Wisplinghoff et al. (2013), realizado entre 1998 e 2006 em 52 hospitais dos Estados Unidos, mostrou que a espécie de fungo mais prevalente em infecções sanguíneas decorrentes de CVCs foi *Candida glabrata*.

As infecções sanguíneas ocorrem com maior frequência em pacientes submetidos ao uso de cateteres intravenosos por tempo prolongado (DONLAN, 2001). Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de infecções sanguíneas por cateter, segundo Gahlot et al. (2014), incluem o modo e o local de inserção do dispositivo, seu tempo de permanência, a nutrição parenteral, infecções adjacentes, comorbidades do paciente, a falta de higiene e a umidade local.

De acordo com O'Grady et al. (2011), suspeita-se que uma infecção sanguínea seja decorrente de um CVC apenas se decorrer 48h ou mais desde o alojamento do dispositivo no paciente. Um cateter colonizado por biofilmes pode levar a uma infecção sanguínea, que se apresenta com febre, hipotensão, mal-estar, vômitos e alteração no nível de consciência, e o sítio de inserção do cateter pode apresentar eritema, edema e pus. As principais consequências são sepse, endocardite, artrite séptica, osteomielite, abscessos e êmbolos sépticos (GAHLOT et al., 2014). Diante da suspeita, o dispositivo é removido e submetido à cultura microbiológica para descobrir se é a fonte da infecção (CAPDEVILA, 1998).

Os procedimentos mais conhecidos para detecção de micro-organismos nos cateteres removidos são: o método qualitativo, em que é feita uma cultura com a ponta do dispositivo em um tubo contendo caldo nutritivo – no entanto, essa técnica possui baixa especificidade, por isso não é muito usada atualmente; o método semi-quantitativo de Maki, Weise e Sarafin (1977), referência mundial como procedimento diagnóstico, em que a ponta do cateter é rolada sobre uma placa de cultura ágar para se isolar os micro-organismos da superfície externa; e a cultura endoluminal quantitativa, a partir da lavagem da ponta do dispositivo em um tubo, para isolar os seres do lúmen interno do cateter (BOUZA et al., 2002).

A colonização de CVCs por micro-organismos possui relevância não apenas do ponto de vista clínico, mas também de saúde pública. Romling et al. (2014) descreveram que infecções por biofilmes estão estimadas a causar mais de meio milhão de mortes e a gerar gastos em torno de \$94 bilhões de dólares anualmente nos Estados Unidos da América (EUA). O'Grady et al. (2011) inferem que, nos EUA,

ocorrem cerca de 80.000 infecções associadas a cateteres nas UTI anualmente, o que acarreta em grande mortalidade e maiores custos para o sistema de saúde.

Um censo publicado pelo Centers of Disease Control and Prevention (CDC) em 2011 estimou que a casuística das infecções sanguíneas associadas especificamente a acessos venosos centrais foi de 18 mil nos Estados Unidos em 2009, com uma taxa de mortalidade de 12 a 25%.

Foi publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 2014, um levantamento de dados referente a infecções sanguíneas associadas a CVC no Brasil em 1692 hospitais, que evidenciaram uma incidência de 5,1 infecções a cada 1000 acessos venosos centrais por ano. De acordo com o CDC (2016), quando a equipe conhece a magnitude das infecções hospitalares e adere a programas de prevenção, é possível reduzir em até 70% o número de infecções relacionadas à assistência em saúde. Dessa forma, existe uma necessidade de se conhecer a epidemiologia dos micro-organismos formadores de biofilmes e das infecções associadas a CVC, para que medidas profiláticas possam ser estabelecidas e reforçadas.

Diante disso, o objetivo geral dessa pesquisa foi isolar e identificar os micro-organismos formadores de biofilmes em cateteres venosos centrais de pacientes de três Unidades de Terapia Intensiva do município de Toledo (PR); e os objetivos específicos são: isolar e identificar as espécies de micro-organismos dos biofilmes da superfície dos cateteres venosos centrais; determinar a prevalência de cateteres colonizados por biofilme nas UTIs em estudo; compreender a relação entre a prevalência encontrada e os mecanismos de patogênese; e interpretar os resultados microbiológicos frente ao quadro clínico dos pacientes estudados.

## **2 ARTIGO**

O presente estudo foi realizado em formato de artigo conforme deliberação da Comissão de Trabalho de Curso da UFPR – Campus Toledo, escrito segundo as normas em anexo da Revista *Biofilms and Microbiomes*, com o título: “Caracterização microbiológica de biofilmes em cateteres venosos centrais de três Unidades de Terapia Intensiva do oeste paranaense”.

## **Caracterização microbiológica de biofilmes em cateteres venosos centrais de três Unidades de Terapia Intensiva do oeste paranaense**

\*Otávio Augusto Scariotto<sup>1</sup>, Juliana Bernardi Wenzel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Paraná (UFPR) – campus Toledo

\*Contato: otavioscariotto@outlook.com

### **RESUMO**

A formação de biofilmes é uma das complicações mais comuns em dispositivos invasivos na área da saúde, como o cateter venoso central (CVC), muito usado em terapia intensiva. A colonização de CVC por micro-organismos leva a infecções, geralmente de desfecho desfavorável, como a sepse por exemplo. Este estudo surge da necessidade de prevenir essas infecções decorrentes de biofilmes em CVC, frente à prevalência de casos no mundo e no Brasil, e também à gravidade de suas complicações. Foram realizadas coletas de cateteres em três Unidades de Terapia Intensiva (UTI) do município de Toledo - PR. Sob condições assépticas, os CVC foram coletados e analisados, realizando-se cultura direta dos micro-organismos presentes. Após evidenciado crescimento microbiano, foi realizada identificação microbiana por provas bioquímicas. Os dados foram analisados para se verificar quantos cateteres estavam colonizados por biofilmes, quais espécies estavam prevalentes em cada unidade hospitalar e qual a relação da colonização microbiana de CVC com os dados clínicos dos pacientes. Das 55 amostras de ponta de cateter coletadas, 21,8% (n=12) foram consideradas colonizadas, 20% (n=11) contaminadas e 58,2% (n=32) não evidenciaram crescimento microbiano. Houve uma diferença significativa nessa proporção entre as UTIs em estudo, sendo que foram 35,72% cateteres colonizados na UTI-1, 16% na UTI-2 e 18,75% na UTI-3. Os dados dessa pesquisa corroboram com o fato de que a presença de infecções adjacentes do paciente é fator de risco para formação de biofilmes em cateteres, visto que entre os pacientes com suspeita de infecção, 26,3% dos CVC estavam colonizados, e entre os pacientes com infecção confirmada, 50% das amostras mostraram colonização. Além disso, este estudo não evidenciou relação direta entre o tempo de permanência dos dispositivos nos pacientes com colonização microbiana, nas 58 amostras. Foi identificada uma prevalência de *Staphylococcus spp.* (50%) nos CVC, sendo 34,6% *Staphylococcus coagulase negativo* (SCN), o que condiz com a literatura e indica que o maior mecanismo de patogênese na formação de biofilmes nesses dispositivos é a migração para o CVC de micro-organismos que compõem a microbiota da pele.

## INTRODUÇÃO

Biofilmes são comunidades de micro-organismos, imersos em uma matriz extracelular, que se aderem a uma superfície para formar um microambiente adequado para sobrevivência e reprodução.<sup>1</sup> Essa forma de vida microbiana configura a patogênese de diversas infecções humanas, estimadas a causar mais de meio milhão de mortes anualmente nos Estados Unidos da América (EUA).<sup>2</sup> A colonização por biofilmes é muito evidenciada em dispositivos médicos invasivos, como cateteres venosos centrais (CVC)<sup>3</sup>, muito usados na terapia intensiva para acessar veias de grosso calibre (subclávia, jugular interna e femoral) no enfermo.<sup>4</sup> As infecções associadas a biofilmes em CVC resultam em uma das maiores causas de morbimortalidade em pacientes da Unidade de Terapia Intensiva (UTI).<sup>5</sup> Nos EUA, ocorrem cerca de 80 mil infecções associadas a cateteres nas UTI anualmente, sendo que em 2009, 18 mil dessas infecções decorreram de acesso venoso central, com uma taxa de mortalidade de 12 a 25%.<sup>2,6</sup>

Como agravante, o biofilme funciona como uma barreira contra o sistema imune do hospedeiro e contra os antimicrobianos, o que lhe confere resistência.<sup>1,3</sup> A infecção sanguínea é a principal complicação da colonização de CVCs<sup>7</sup>, e seus fatores de risco incluem manipulação do dispositivo, infecções adjacentes e comorbidades do paciente.<sup>8</sup> A principal fonte de colonização dos cateteres é a pele no sítio de inserção, por isso deve-se realizar antisepsia adequada antes da inserção do dispositivo.<sup>9-12</sup>

As células estafilocócicas, por comporem a microbiota da pele humana<sup>13</sup>, são o grupo de bactérias mais associado à colonização de CVC, principalmente os *Staphylococcus* coagulase-negativo (SCN), tendo como maior representante a espécie *S. epidermidis*. O *S. aureus*, coagulase-positivo, também tem prevalência

considerável e está mais associado a infecções por colonização de cateteres venosos.<sup>14-19</sup> Outros micro-organismos que podem ser isolados incluem *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *P. aeruginosa* e outras bactérias, além de fungos do gênero *Candida*.<sup>7,19-23</sup>

A infecção sanguínea se apresenta com sinais e sintomas como febre, hipotensão e mal-estar, e se decorrente do CVC, o sítio de inserção do dispositivo pode apresentar eritema e pus. Sua principal consequência é a sepse.<sup>8</sup> Em vigência de febre sem foco, o CVC deve ser removido caso esteja inserido no paciente há mais de 48h, devendo ser submetido à cultura microbiológica para se investigar a fonte de infecção.<sup>10,25</sup> A detecção de micro-organismos nos cateteres removidos é mundialmente realizada a partir do método semi-quantitativo<sup>26</sup> para isolamento de micro-organismos da superfície externa do CVC, mas pode também ser feita pelo método quantitativo<sup>27</sup> para avaliação microbiológica do lúmen interno<sup>28</sup>.

No Brasil, foram publicados dados em 2014, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), referentes à incidência de infecções sanguíneas associadas a CVC, evidenciando 5,1 casos de infecções para cada 1000 dispositivos por dia em mais de mil hospitais<sup>29</sup>. Dessa forma, existe uma necessidade de se conhecer a epidemiologia dos micro-organismos formadores de biofilmes e das infecções associadas a esses dispositivos, para que medidas profiláticas possam ser reforçadas. Assim, os objetivos desta pesquisa foram: isolar e identificar os micro-organismos formadores de biofilmes em cateteres venosos centrais de pacientes de três Unidades de Terapia Intensiva (UTI) do município de Toledo (PR); determinar a prevalência de cateteres colonizados por biofilme nas UTIs estudadas; relacionar a prevalência encontrada e os mecanismos de

patogênese; e interpretar os resultados microbiológicos frente ao quadro clínico dos pacientes estudados.

## RESULTADOS

### Análise epidemiológica dos pacientes internados em UTI

Foram coletados cateteres de pacientes internados em três UTIs de adultos do município de Toledo (PR), sendo duas (UTI-1 e UTI-2) anexas a um hospital, e a terceira (UTI-3) a outro. Em oito meses, foram obtidas 55 amostras de pacientes cateterizados por mais de 24 horas, sendo por 14 pontas de cateter da UTI-1, 25 da UTI-2 e 16 da UTI-3. Do total de participantes, 32 (59,2%) eram do sexo masculino e 23 (41,8%) do sexo feminino, e a faixa etária foi de 18 a 86 anos, com idade média de 56,8 anos. Os principais motivos de internação em terapia intensiva dos pacientes estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1:** Causas de internação em unidade de terapia intensiva dos pacientes que tiveram seus cateteres venosos centrais analisados quanto à presença de micro-organismos.

| <b>Causas</b>                                  | <b>Quantidade (n)</b> | <b>Frequência (%)</b> |
|--|-----------------------|-----------------------|
| Insuficiência respiratória                     | 10                    | 18,2%                 |
| Pós-operatório                                 | 9                     | 16,4%                 |
| Traumatismo cranioencefálico (TCE)             | 9                     | 16,4%                 |
| Acidente vascular encefálico (AVE) hemorrágico | 7                     | 12,7%                 |
| Politrauma                                     | 4                     | 7,3%                  |
| Pneumonia                                      | 3                     | 5,5%                  |
| AVE isquêmico                                  | 2                     | 3,6%                  |
| Crise convulsiva                               | 2                     | 3,6%                  |
| Edema cerebral                                 | 2                     | 3,6%                  |
| Infarto agudo do miocárdio                     | 2                     | 3,6%                  |
| Sepse  | 2                     | 3,6%                  |
| Insuficiência cardíaca congestiva (ICC)        | 1                     | 1,8%                  |
| Rebaixamento do nível de consciência           | 1                     | 1,8%                  |
| Vítima de agressão                             | 1                     | 1,8%                  |
| <b>Total</b>                                   | <b>55</b>             | <b>100,0%</b>         |

O tempo de internamento dos pacientes variou de dois a 63 dias, com média de 20,2 dias, e o tempo de uso de um CVC permaneceu em um intervalo de três a 44 dias, com média de uso de 14,5 dias.

Foi analisada a quantidade de pacientes incluídos no estudo que possuíam alguma infecção confirmada por exames complementares ou suspeita de infecção sem confirmação (Figura 1).



**Figura 1:** Perfil dos pacientes, em que a ponta de cateter foi removida, internados nas UTIs, quanto a infecção ou suspeita de infecção e sem infecção (n=55).

Como demonstrado, a maioria dos pacientes não apresentava sintomas de infecção. Nota-se que houveram seis (12%) pacientes com infecção confirmada, sendo que 4% tinham sepses evidenciada por hemocultura, 4% infecção pulmonar por exames clínicos e laboratoriais e 4% tiveram confirmação de infecção abdominal por peritonite associada a outros exames.

Os motivos que levaram a remoção dos cateteres dos pacientes, dentre as 55 pontas analisadas, bem como os percentuais de cada motivo, encontram-se na Tabela 2, na qual observa-se que a maioria dos cateteres foram removidos por alta da UTI, por febre sem foco ou por melhora clínica.

**Tabela 2:** Relação dos motivos de retirada dos cateteres venosos centrais dos pacientes internados nas três UTIs do estudo.

| Motivo                           | Quantidade (n) | Frequência (%) |
|----------------------------------|----------------|----------------|
| Alta da UTI                      | 18             | 32,7%          |
| Febre sem foco                   | 16             | 29,1%          |
| Melhora clínica                  | 9              | 16,4%          |
| Sinais flogísticos               | 5              | 9,1%           |
| Tempo de permanência             | 5              | 9,1%           |
| Obstrução                        | 1              | 1,8%           |
| Suspeita de sepse por hipotensão | 1              | 1,8%           |
| <b>Total</b>                     | <b>55</b>      | <b>100,0%</b>  |

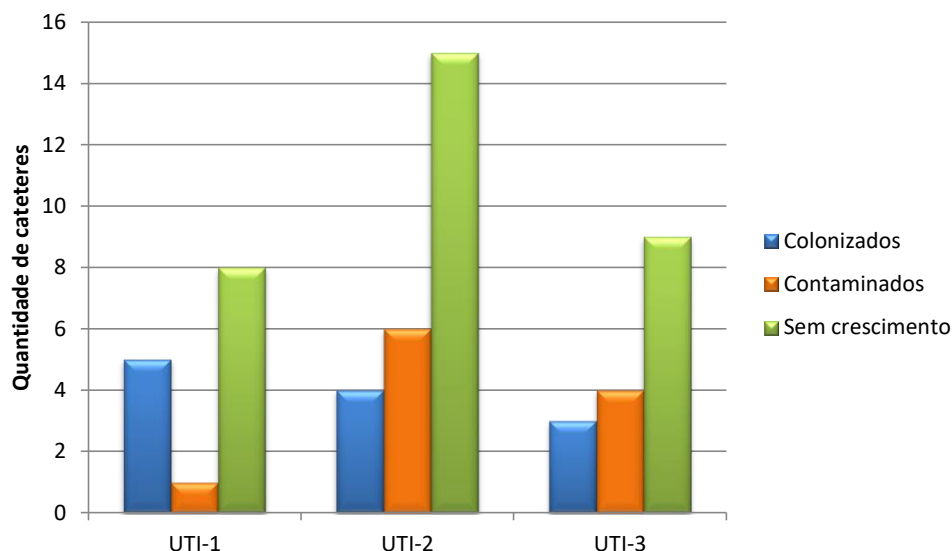
### Análise da cultura microbiana dos cateteres

A cultura microbiana das amostras foi analisada utilizando-se duas metodologias em cada uma das 55 amostras. No método semi-quantitativo, foram considerados colonizados 12 cateteres (21,8%), que apresentaram contagem igual ou superior a 15 unidades formadoras de colônias (UFC), enquanto oito (14,5%) estavam contaminados (UFC < 15) e 35 (63,6%) não apresentaram crescimento de micro-organismos. Já no método quantitativo, seis (10,9%) amostras estavam colonizadas (UFC  $\geq 10^3$ ), doze (21,8%) estavam contaminadas (UFC <  $10^3$ ) e 37 (67,27%) não tiveram crescimento. Utilizando estes dados que comparam o crescimento microbiano nas duas metodologias, foi realizada uma análise estatística comparativa, que revelou concordância de Kappa<sup>30</sup> de 0,51774, considerada como concordância moderada (Tabela 3).

**Tabela 3:** Comparação do crescimento microbiano em pontas de cateter analisadas pelas metodologias semi-quantitativa (SQt) e quantitativa (Qt).

| SQt \ Qt                     | Colonizados ( $\geq 10^3$ UFC.mL <sup>-1</sup> ) | Contaminados (< $10^3$ UFC.mL <sup>-1</sup> ) | Sem crescimento (0 UFC.mL <sup>-1</sup> ) | Total     |
|------------------------------|--|---|---|-----------|
| Colonizados ( $\geq 15$ UFC) | 6  | 6   | 0   | 12        |
| Contaminados (<15 UFC)       | 0  | 3   | 5   | 8         |
| Sem crescimento (0 UFC)      | 0  | 3   | 32  | 35        |
| <b>Total</b>                 | <b>6</b>   | <b>12</b>                                     | <b>37</b>                                 | <b>55</b> |

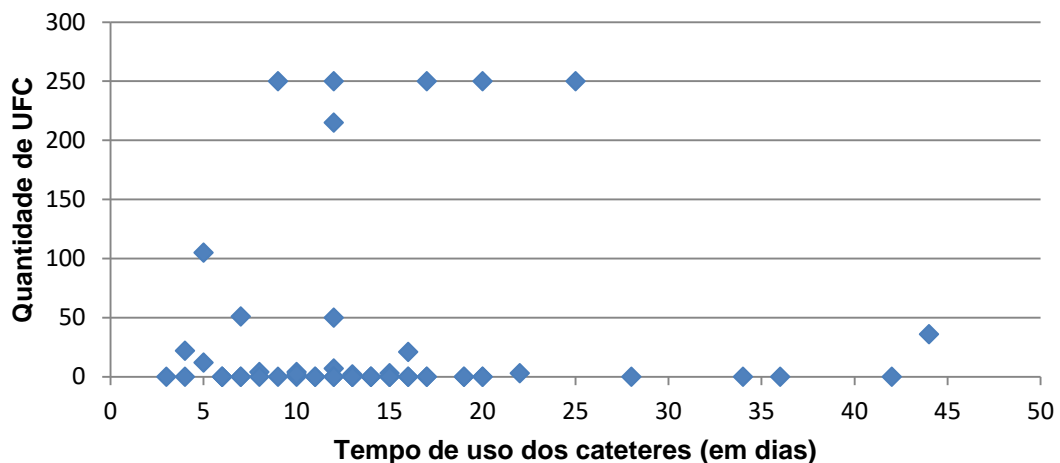
As amostras foram estratificadas de acordo com as duas metodologias. Foram consideradas colonizadas as pontas de CVC que demonstraram colonização em pelo menos uma das culturas, de acordo com a contagem de UFC. Os cateteres que apresentaram crescimento microbiano, mas que não evidenciaram colonização, foram considerados contaminados. As pontas de cateter sem crescimento são aquelas que tiveram contagem de UFC nula em ambos os métodos. Dessa forma, no total, foram consideradas 12 (22%) amostras como colonizadas, 11 (20%) contaminadas e 32 (58%) sem crescimento. A Figura 2 apresenta a comparação do perfil microbiano dos CVC de cada UTI. A prevalência de cateteres colonizados por unidade foi: 35,72% (n=5) na UTI-1, 16% (n=4) na UTI-2 e 18,75% (n=3) na UTI-3. Já as amostras contaminadas encontram-se em proporção de 7,14% (n=1) na UTI-1, 24% (n=6) na UTI-2 e 25% (n=4) na UTI-3. Com relação aos dispositivos que não evidenciaram crescimento microbiano, observa-se que na UTI-1 houve prevalência de 57,14% (n=8), na UTI-2 foram 60% (n=15) e na UTI-3, 56,25% (n=9).



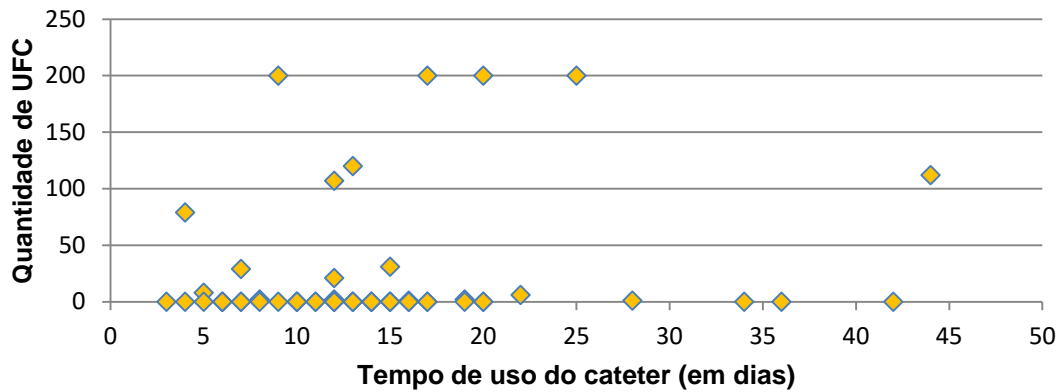
**Figura 2:** Comparação dos resultados microbiológicos quanto a colonização, contaminação e ausência de crescimento dos cateteres entre as três UTIs analisadas.

### Comparação da cultura dos cateteres com dados clínicos

Foi realizada uma relação entre o resultado microbiológico das pontas de cateteres em função do tempo de permanência do dispositivo, analisando tempo mínimo, máximo e médio calculado por média harmônica. Com relação aos cateteres colonizados, o tempo mínimo de uso foi de quatro dias, o máximo de 44 dias e o tempo médio foi de 10,1 dias. Já entre as amostras contaminadas, evidenciamos tempo mínimo de cinco dias, máximo de 28 e médio de 11,5 dias. Quanto aos dispositivos que não demonstraram crescimento microbiano, o tempo mínimo de uso foi de três dias, máximo de 42 e médio de 10,3 dias. Dessa forma, não houve diferenças expressivas entre as médias de tempo de permanência do dispositivo comparando os resultados das culturas microbianas de ponta de cateter. As Figuras 3 e 4 confrontam a contagem de UFC nas metodologias semi-quantitativa e quantitativa, respectivamente, com o tempo de permanência do CVC nos pacientes.

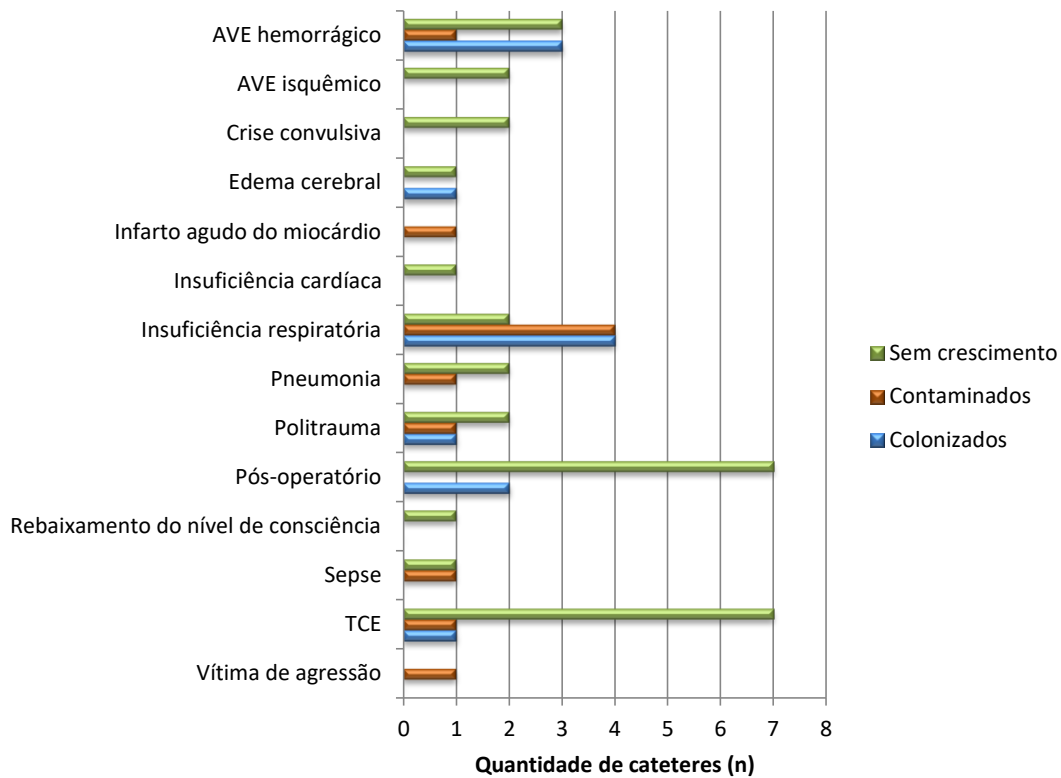


**Figura 3:** Relação da contagem de UFC da cultura microbiana das pontas de cateter no método semi-quantitativo em função do tempo de permanência do dispositivo.



**Figura 4:** Relação da contagem de UFC da cultura microbiana das pontas de cateter no método quantitativo em função do tempo de permanência do dispositivo.

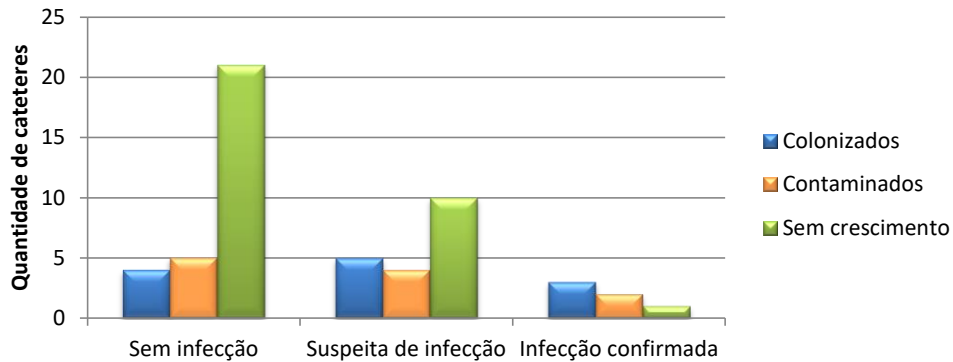
Observando os motivos de internação na UTI (Figura 5), foi constatado que entre as causas infecciosas (sepse e pneumonia), nenhum cateter estava colonizado, e dois (40%) estavam contaminados. A causa de internação mais associada com colonização de CVC foi insuficiência respiratória (40%).



**Figura 5:** Relação entre resultado da cultura microbiana das pontas de cateter com o motivo de internamento dos pacientes nas UTIs (n = 55).

Os pacientes que tiveram ponta de cateter removida para análise também foram identificados quanto a quadros infecciosos, sendo estratificados com confirmação, suspeita ou ausência de infecção. Dentre os pacientes com suspeita infecciosa durante o internamento na UTI, 26,3% (n=5) tinham ponta de cateter colonizada e 21% (n=4) contaminada. Dentre os pacientes com infecção confirmada, três (50%) tinham pontas de cateter colonizadas, dois (33,3%) tinham amostra contaminada e um (16,7%) sem crescimento. As patologias identificadas nesses pacientes foram infecção abdominal, pneumonia e sepse. Daqueles com pneumonia, uma amostra estava colonizada e outra não evidenciou crescimento. Já naqueles com infecção abdominal, todos tinham CVC colonizados. Nos pacientes com quadro séptico, que tem relação descrita de colonização de CVC<sup>8</sup>, as pontas de cateter

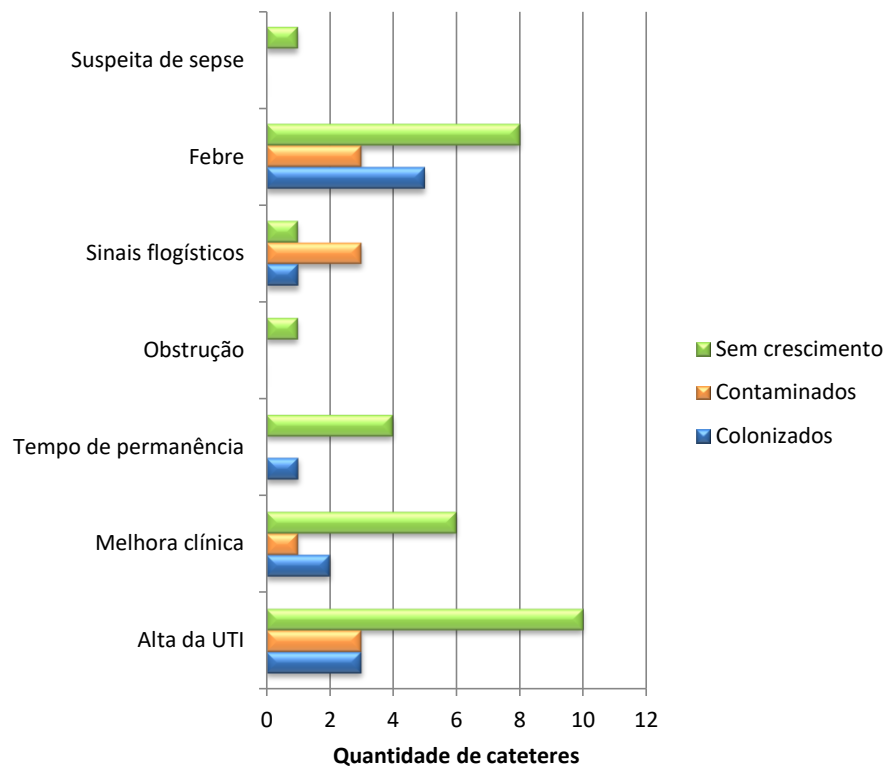
estavam apenas contaminadas e ambos os pacientes estavam sob uso de antibióticos (Figura 6).



**Figura 6:** Relação dos resultados de cultura microbiana dos cateteres com quadro clínico de confirmação, com suspeita ou ausência de infecção.

O motivo de retirada do cateter foi confrontado com os resultados do crescimento microbiano das pontas (Figura 7). De 22 pacientes com suspeita clínica de infecção do dispositivo, seis (27,3%) cateteres estavam colonizados, seis (27,3%) contaminados e dez (45,4%) sem crescimento. Desses, 16 pacientes que tinham febre sem foco encontrado, foram confirmadas cinco amostras colonizadas e três contaminadas. Já entre os cinco cateteres removidos por aparentes sinais flogísticos, um revelou colonização e três contaminação. Outro paciente, descrito com suspeita de sepse por hipotensão não explicada por outras causas, teve ponta de cateter com cultura negativa.

Um total de 25 pacientes tiveram o cateter removido por alta da UTI ou por melhora clínica. Destes, em 16 (64%) não foi evidenciado crescimento microbiano, quatro (16%) apresentavam-se contaminados e cinco (20%) colonizados. Além disso, de cinco pontas removidas por tempo de permanência do dispositivo, apenas uma evidenciou colonização, e quatro não tiveram crescimento microbiano.



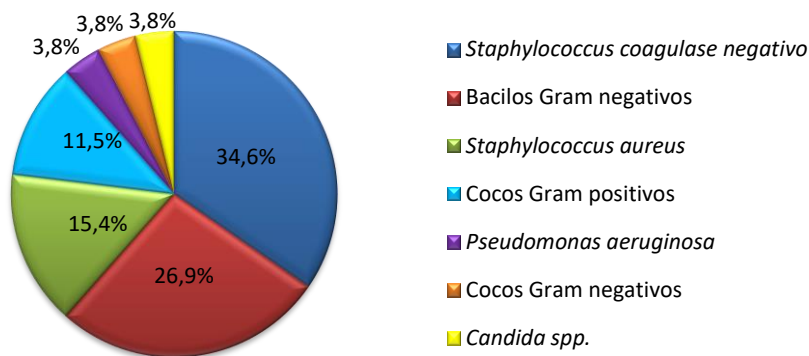
**Figura 7:** Relação dos resultados de cultura microbiana dos cateteres com motivo de retirada do dispositivo.

### Identificação dos micro-organismos dos cateteres

Os micro-organismos isolados das pontas de cateter que tiveram crescimento microbiano, no método semi-quantitativo, no quantitativo ou em ambos, foram identificados para o estudo. Dentre as 55 pontas de CVC do estudo, 23 demonstraram crescimento de um ou mais micro-organismos. No total, foram obtidas 26 cepas diferentes, que foram submetidas à coloração Gram com visualização em microscopia, provas bioquímicas, meios de cultura seletivos e diferenciais e à caracterização morfológica para fungos. Como os espécimes não foram submetidos à identificação molecular, alguns não foram identificados em nível de espécie, sendo

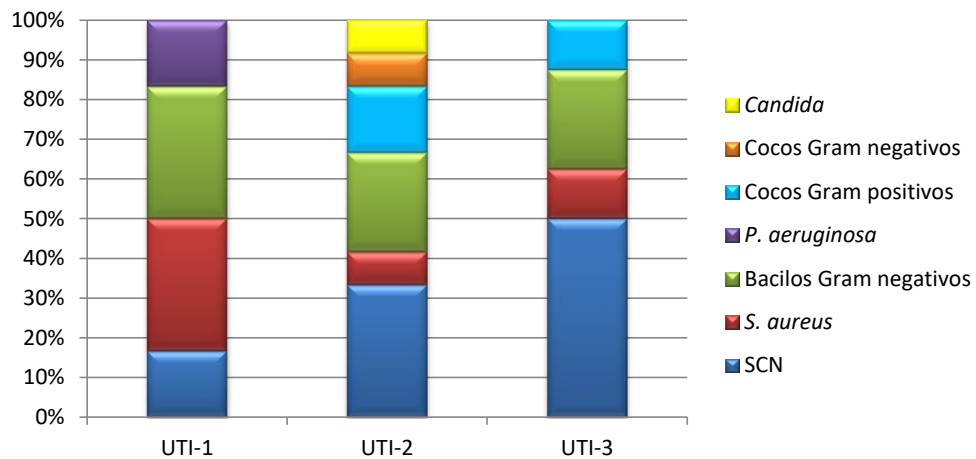
classificados de acordo com as evidências dos testes de identificação presuntiva descritos acima.

Dentre os 26 micro-organismos, foram identificadas bactérias do gênero *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN), bacilos Gram negativos, *Staphylococcus aureus* (coagulase positivo) e cocos Gram positivos. Outros micro-organismos encontrados incluem cocos Gram negativos, fungos do gênero *Candida* e uma amostra da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, a qual foi separada do grupo de bacilos Gram negativos por ter sido identificada em nível de espécie (Figura 8).



**Figura 8:** Micro-organismos identificados nas pontas de cateteres coletados dos pacientes do estudo.

Os mesmos micro-organismos foram separados conforme a UTI de origem dos cateteres venosos, para comparar a prevalência microbiana entre as unidades (Figura 9).



**Figura 9:** Distribuição dos micro-organismos isolados e identificados de acordo com a UTI de origem do cateter. SCN = *Staphylococcus coagulase negativo*.

## DISCUSSÃO

A diferença entre contaminação e colonização não se dá apenas na contagem numérica de UFC evidenciada na cultura microbiana. Cateteres colonizados são aqueles que já estão sob a forma de vida de biofilmes, por isso representam maior risco de infecção e maior resistência à antibioticoterapia. Já a contaminação indica que em algum momento, desde a inserção do dispositivo no paciente até o processamento da amostra, houve contato do material com micro-organismos, sem tempo suficiente para a formação de biofilmes. Uma contaminação microbiana pode evoluir para colonização, logo também pode representar risco infeccioso.<sup>1-3,16</sup>

O índice de concordância de Kappa é um número obtido a partir de cálculos que tem por objetivo avaliar o grau de concordância entre dois observadores – representados, nesse estudo, pelas metodologias. O índice varia de zero a um, sendo que a concordância é diretamente proporcional ao valor numérico. A análise estatística comparativa das metodologias usadas para cultura microbiana das

amostras (Tabela 3) revela que existe uma concordância moderada (coeficiente Kappa = 0,5318) entre os métodos semi-quantitativo e quantitativo, o que indica que, embora não haja discordância entre as metodologias, essas não evidenciam uniformemente os mesmos resultados de cultura microbiana em todos os cateteres.<sup>30</sup> Além disso, algumas pontas de cateter tiveram crescimento microbiano em apenas um dos métodos, visto que cada metodologia pesquisa a existência de micro-organismos em superfícies diferentes do cateter – a semi-quantitativa analisa a superfície externa, e a quantitativa, o lúmen interno do dispositivo. Dessa forma, embora os métodos não tenham alta concordância entre si, ambos podem se complementar quando usados em conjunto, de forma a aumentar a acurácia no diagnóstico de colonização por biofilmes em cateteres.

Em vigência da estratificação dos cateteres a partir da combinação duas metodologias, é notório que poucos dispositivos (22%, n=12) evidenciaram colonização, o que demonstra, em geral, controle microbiológico adequado. A proporção de CVC colonizados, contaminados e sem crescimento está semelhante à encontrada em outros estudos semelhantes.<sup>31</sup> Embora a quantidade de pontas de cateter obtidas dos três locais seja diferente (Figura 3), é possível avaliar o perfil de controle microbiano de cada um proporcionalmente. A UTI-1 teve a menor quantidade de amostras (n=14) e foi a que demonstrou maior proporção de cateteres colonizados (35,7%). A UTI-2 foi a que teve mais pontas sem qualquer crescimento microbiano (60%, n=15). A UTI-3 encontra-se com proporções semelhantes à UTI-2. Isso indica que, entre as UTIs, existe uma diferença no controle microbiológico, que podemos atribuir a características próprias da equipe da UTI e do ambiente. A disposição dos móveis e o fluxo de pessoas dentro do espaço da UTI são fatores que podem estar associados a essas diferenças no controle microbiológico. Dessa

forma, esses fatores devem ser investigados para entender por que cada Unidade teve diferentes proporções de cateteres colonizados, para que medidas profiláticas sejam sempre reforçadas no espaço de terapia intensiva.<sup>25,29,40</sup>

O motivo de internamento do paciente em terapia intensiva, de forma isolada, não mostrou relação direta com a colonização de CVC. Dentre as causas infecciosas (sepse e pneumonia), nenhuma amostra estava colonizada, o que poderia ser explicado pela administração de antibióticos nesses pacientes para tratamento da patologia, dessa forma evitando a formação de biofilmes nos cateteres. A internação por insuficiência respiratória teve alta associação com crescimento microbiano, sendo que 40% das amostras (n=4) apresentaram colonização e 40% (n=4) contaminação (Figura 5), e todos os pacientes internados por esse motivo estavam em uso de antibióticos.

Processos infecciosos configuram uma realidade da terapia intensiva. Nota-se que uma porcentagem considerável dos pacientes (45,4%, n=25) possuía infecção ou suspeita de qualquer foco durante o internamento. Observamos que, entre esses pacientes, 32% (n=8) tinham cateteres colonizados e 24% (n=6) contaminados, o que corrobora com o fato de que infecções adjacentes do paciente podem ser um fator de risco para desenvolvimento de infecção sanguínea por CVC<sup>8</sup>. Observamos que dois pacientes estavam com quadro de sepse, mas suas pontas de cateter estavam apenas contaminadas. É possível que não tenha ocorrido colonização devido a esses pacientes estarem sob uso de antibióticos para resolução da sepse.

Ainda, dentre os outros 30 pacientes sem suspeita de quadro infeccioso, 21 (70%) não evidenciaram crescimento microbiano nos cateteres, e apenas quatro (13,3%) apresentavam colonização. Embora os CVC de pacientes sem infecções

mostrem menor prevalência de colonização microbiana, eles não estão isentos da formação de biofilmes, como apontam os dados. Mediante isso, a inspeção diária do dispositivo pelo enfermeiro treinado é importante para avaliar necessidade de retirada do CVC frente a sinais de inflamação, a fim de evitar complicações infecciosas.<sup>32</sup>

Uma parcela expressiva de cateteres (n=22, 40%) foi retirada dos pacientes por suspeita de infecção primária do dispositivo (Figura 7). No entanto, dentre eles, apenas seis (27,3%) eram colonizados. Avaliando isoladamente os pacientes com febre sem foco, cinco amostras de 16 (31,25%) tinham colonização e potencialmente poderiam ser a causa desse sinal, por indicar possível infecção de cateter. Quando analisamos isoladamente todos os cateteres colonizados (n=12), vemos que o maior motivo de retirada dele foi a febre (41,7%, n=5). Dessa forma, embora muitos cateteres sejam removidos por esse motivo sem demonstrarem formação de biofilmes na cultura, a prevalência de febre inexplicável na terapia intensiva é expressiva, devendo haver precaução da equipe no controle de quadros infecciosos. Visto que o desfecho das infecções sanguíneas associadas a CVC não é favorável<sup>2-6</sup>, há uma importância na retirada do dispositivo em vigência de febre sem foco, mesmo que não seja evidenciada colonização microbiana posteriormente. O CVC deve também ser removido sob qualquer suspeita de sepse, como no quadro de hipotensão inexplicável em um dos pacientes, que se encontrava afebril (Tabela 7).

Sinais flogísticos no local de inserção do cateter também alertam para processos infecciosos.<sup>8</sup> Neste estudo, dentre as amostras retiradas por esse motivo, apenas uma de cinco (20%) estava colonizada e três (60%) contaminadas. O tempo de permanência em cateteres que apresentaram sinais flogísticos variou de quatro a

28 dias, sendo que o de menor tempo foi o que apresentou colonização microbiana, o que não demonstra relação do tempo de uso com a presença de inflamação. Além disso, apenas dois desses pacientes estavam sob antibioticoterapia. Mediante esses fatos, é possível que o sistema imune do hospedeiro, na presença de microorganismos no cateter, poderia estar combatendo-os, gerando inflamação e impedindo a formação de biofilmes e, conseqüentemente, a colonização do CVC. De qualquer forma, a presença de sinais inflamatórios no cateter é motivo respaldado em literatura para retirada do dispositivo e investigação de colonização microbiana.<sup>32</sup>

Dentre as 32 amostras removidas sem suspeita de infecção, seis (18,75%) evidenciaram colonização e 22 (68,75%) não mostraram crescimento. Novamente, o fato de um paciente não ter sinais de infecção não o isenta de ter um cateter colonizado. A lógica para essa teoria é a mesma que explica a retirada do dispositivo quando paciente tem febre sem foco definido, mesmo que o sítio de inserção do cateter não mostre sinais de infecção.<sup>33-36</sup>

Gahlot et al. (2014)<sup>8</sup> ainda trazem como fator de risco também o tempo de permanência do dispositivo no paciente. Nesse estudo, comparamos o resultado da cultura inicial das amostras com o tempo de permanência no paciente. As médias harmônicas de tempo de uso de cateteres colonizados, contaminados e sem crescimento foram respectivamente 10,1, 11,5 e 10,3 dias. Essa semelhança dos valores calculados poderia indicar que o tempo de uso do cateter não é fator de risco para formação de biofilmes no dispositivo. Quando confrontamos o tempo com a quantidade de UFC evidenciadas em cultura, nota-se que não há uma proporção direta entre essas variáveis (Figuras 3 e 4). Isso poderia ser explicado pela exposição do paciente a diversos antimicrobianos durante o internamento, pela

incidência de infecções associadas à assistência em saúde e pelas comorbidades de cada paciente, as quais sabe-se que tem patogênese considerável na predisposição de quadros infecciosos.<sup>8</sup>

No entanto, as Figuras 3 e 4 indicam um período de maior colonização de cateteres entre dez e 25 dias de uso. Os CVC, quando usados até 15 dias, têm maior chance de colonização na superfície externa. Quando o tempo de uso é maior, o risco de formação de biofilmes no lúmen interno tende a aumentar.<sup>37</sup> Embora as metodologias de cultura que utilizamos nesse estudo avaliem ambas essas superfícies do cateter, elas não mostraram diferença expressiva na contagem de micro-organismos entre dispositivos de curto e de longo uso. Dessa forma, os dados desse estudo não demonstram que o tempo de permanência do CVC isoladamente tenha relação significativa na formação de biofilmes e não indicam que um cateter deva ser removido por validade.

Além disso, nos motivos de remoção do cateter, cinco amostras foram retiradas por tempo de permanência, mas apenas uma delas (20%) estava colonizada. Dessas pontas de cateter, o tempo de inserção no paciente variou de nove a 42 dias, com média de 22,4 dias, sendo que o cateter com menor tempo de uso (nove dias) foi retirado de um paciente com AVE hemorrágico e evidenciou colonização, enquanto que o de maior tempo (44 dias) não teve crescimento microbiano. A retirada precoce do CVC de um paciente com AVE é prevista pelos protocolos dos hospitais, pois uma das complicações do uso desse dispositivo é a trombose venosa, que pode levar a novo derrame.<sup>38,39</sup> Com relação aos outros quatro dispositivos removidos por tempo de permanência, sem incluir o paciente com AVE, não houve correlação com motivo de internamento em UTI ou

comorbidades dos pacientes, e o tempo teve ampla variação, de 13 a 42 dias. Dessa forma, os resultados indicam que a remoção dos dispositivos exclusivamente por validade do dispositivo pode ser desnecessária.

Sabe-se que não é o tempo de uso em si que aumenta o risco de colonização por biofilmes, mas sim a manipulação excessiva do dispositivo, inclusive sua troca frequente.<sup>37</sup> A variabilidade de tempo de uso dos cateteres retirados eletivamente nesse estudo mostra que não há critérios bem estabelecidos para remoção do dispositivo por validade. Ademais, os protocolos de diferentes hospitais divergem quanto à cronologia exata para remoção eletiva de um CVC. Nas três UTIs em estudo, o tempo médio do uso de um cateter, de acordo com os protocolos hospitalares, é de 15 dias, porém observamos tempo maior de permanência do dispositivo, muitas vezes sem que esses estivessem colonizados pela cultura microbiana. O ideal, portanto, seria remover o dispositivo apenas quando bem indicado, e a avaliação diária do enfermeiro (aferição de temperatura do paciente e inspeção do sítio de inserção do CVC) é de suma importância não apenas para prevenir infecções sanguíneas associadas à formação de biofilmes no cateter<sup>32</sup>, mas também para evitar a retirada precoce do dispositivo. A ANVISA (2013) não recomenda a troca pré-programada do CVC, ou seja, ele não deve ser substituído apenas por tempo de permanência, como medida de prevenção de infecções associadas à CVC.<sup>40</sup>

Com relação à identificação dos micro-organismos (Figura 8), observa-se uma prevalência de células estafilocócicas (50%, n=13), com predomínio de SCN (34,6%), e com identificação de *S. aureus* em 15,4% das amostras. Este resultado era esperado e corrobora com a literatura, visto que são seres vivos encontrados na

microbiota da pele humana<sup>13</sup>. Esse dado reforça a teoria mais frequente de patogênese da colonização de CVCs a partir da migração de micro-organismos da pele.<sup>9-19</sup>

Em segundo lugar de prevalência, estão os bacilos Gram-negativos (26,9%) que, com a *P. aeruginosa* identificada, somam oito (30,8%) das 26 amostras. Esse grupo inclui as bactérias dos gêneros *Haemophilus*, *Acinetobacter* e as enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter* spp.). Os cocos Gram-positivos incluem os gêneros *Streptococcus* e *Enterococcus*. Já entre os cocos Gram-negativos, podemos suspeitar de *Moraxella*. Todas as bactérias citadas já foram encontradas em CVC em outros estudos<sup>19,20,41</sup>

É conhecida a formação de biofilmes pelo bacilo Gram-negativo *P. aeruginosa*, principalmente na patogênese de sua infecção pulmonar em pacientes com fibrose cística. Os biofilmes formados por essa espécie possui mecanismos moleculares que dificultam a atuação de antibióticos e do sistema imune do hospedeiro, o que compromete o tratamento antimicrobiano. Existem cepas dessa bactéria que são multirresistentes a antibioticoterapia (MDR, *Multidrug Resistant*). Além disso, essas bactérias podem colonizar cateteres venosos centrais e causar infecções sanguíneas, com mortalidade expressiva.<sup>42-44</sup>

Os cocobacilos Gram-negativos do gênero *Haemophilus* vivem em forma de biofilmes na nasofaringe humana e são patógenos causadores de infecção do trato respiratório, as quais têm maior mortalidade na população idosa e têm risco de bactéria. Embora possível, é incomum observar sua colonização em dispositivos médicos, sendo mais associada à espécie *H. parainfluenzae*.<sup>45-47</sup>

A *Acinetobacter baumannii* é um bacilo Gram-negativo, patógeno oportunista associado a infecções hospitalares, que também está associado à formação de biofilmes em CVC. Além disso, existe um problema recente que é a identificação de cepas de *A. baumannii* MDR, e é necessário estabelecer medidas de prevenção para evitar sua disseminação.<sup>41,48,49</sup>

É conhecido que a enterobactéria *E. coli* vive em simbiose no intestino humano e que está relacionada a infecções. Esses bacilos Gram-negativos são capazes de formar biofilmes e estão mais associados à colonização de cateteres vesicais, devido à proximidade com o trato gastrointestinal. No entanto, existem relatos de infecção de CVC por *E. coli*, e existe uma preocupação de que cada vez mais são identificadas espécies MDR.<sup>50-53</sup>

As bactérias da espécie *Klebsiella pneumoniae*, bacilos Gram-negativos, estão relacionadas a infecções comunitárias e hospitalares, e já foi descrita a colonização desses seres em dispositivos médicos, principalmente cateteres vesicais. São micro-organismos que apresentam alta diversidade de cepas e virulência cada vez mais expressiva. Além de formarem biofilmes, existe uma emergência dessas bactérias na resistência a antimicrobianos, sendo que a mais estudada é a *K. pneumoniae* resistente a carbapenemos (KPC), que estão associadas a infecções sanguíneas e alta mortalidade dentro do ambiente hospitalar.<sup>54-56</sup>

Os enterococos (*Enterococcus* spp.) são cocos Gram-positivos que antigamente eram vistos apenas como micro-organismos comensais do trato gastrointestinal. Atualmente, estão descritos como o terceiro grupo de patógenos mais comum no meio hospitalar, atrás apenas dos SCN e *S. aureus*, e estão

associados à resistência antimicrobiana, como os *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE), relacionados a altas taxas de mortalidade hospitalar.<sup>57,58</sup>

A *Moraxella catarrhalis* é um coco Gram-negativo comensal da nasofaringe humana, associada a infecções respiratórias. Essa espécie não é comum na colonização de dispositivos médicos e nas infecções sanguíneas, sendo mais atribuídos à espécie *M. osloensis*.<sup>59,60</sup>

Esses micro-organismos e outros não mencionados podem ser encontrados na microbiota de muitas UTIs, tendo em vista as comorbidades de pacientes internados diariamente, como pneumonias, infecções abdominais e de trato urinário, queimaduras e traumas, que contribuem para o fluxo desses micro-organismos entre os meios comunitário e intra-hospitalar.<sup>61-64</sup>

Também foi identificado, em uma das amostras, o gênero *Candida*, principal representante dos fungos na formação de biofilmes em CVC. Embora não seja tão prevalente, esse fungo causa candidemia (presença do micro-organismo na corrente sanguínea), que acarreta altas taxas de mortalidade na terapia intensiva.<sup>19-23</sup>

Quando a identificação dos micro-organismos encontrados nos CVC é comparada entre as UTIs, nota-se que existe uma diferença expressiva de prevalência entre as unidades (Figura 9). Isso reflete nas características da equipe, da estrutura física, do controle microbiológico realizado (antisepsia, fluxo de pessoas) e da própria microbiota daquela UTI<sup>25</sup>, que vai determinar a existência e proliferação de alguns grupos microbianos. No que tange à prevenção, pesquisas mostram que quando a equipe de terapia intensiva está atenta aos problemas de

infecção hospitalar e assume passos específicos para preveni-los, é possível reduzir em até 70% as infecções associadas à assistência em saúde.<sup>65</sup>

Dessa forma, existe uma importância no conhecimento da microbiota específica de uma UTI. Esta pesquisa traz uma alternativa para caracterização microbiana nas unidades em estudo, para que haja preparo da equipe na prevenção, na identificação e no tratamento precoce de infecções decorrentes da formação de biofilmes em CVC. Com base na literatura e nos dados observados nesse estudo, o principal mecanismo de patogênese envolvido na formação de biofilmes em CVC é a migração de micro-organismos a partir da microbiota da pele, portanto a antisepsia adequada do sítio de inserção continua sendo a principal ferramenta de prevenção da colonização microbiana desses dispositivos. Além disso, não observamos relevância expressiva na formação de biofilmes por tempo de permanência do cateter. Ressaltamos a necessidade de inspeção diária do sítio de inserção por um profissional da saúde para que haja remoção somente sob suspeita de infecção ou outras indicações específicas, a fim de impedir consequências da colonização microbiana. Ao mesmo tempo, deve-se evitar a remoção precoce e desnecessária do CVC, pois a manipulação excessiva do dispositivo também pode levar à contaminação e consequente colonização por micro-organismos.

## **METODOLOGIA**

Trata-se de um estudo analítico prospectivo, em que o principal material de estudo foi pontas de CVC retiradas de pacientes internados em três UTIs de hospitais do município de Toledo - PR.

### **Caracterização das UTIs do estudo**

A UTI-1 localiza-se em uma instituição filantrópica, que atende pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS). Essa unidade possui 12 leitos, dispostos ao redor do posto de enfermagem, o que permite visualização de todos os pacientes.

A UTI-2 encontra-se no mesmo hospital da UTI-1 e possui 12 leitos, divididos em quartos por biombos e sem portas. Os pacientes que chegam à instituição são direcionados de modo aleatório para uma das unidades, a depender da disponibilidade de leitos, independente do perfil do paciente.

Já a UTI-3 faz parte de outra instituição de saúde, privada, com sete leitos divididos em box individuais.

Todas as unidades atendem pacientes maiores de 18 anos.

### **Coleta das pontas de cateter**

As coletas de cateteres foram realizadas de março a outubro de 2019 em três UTIs adultas, sendo que duas (UTI-1 e UTI-2) fazem parte de uma instituição, e a terceira (UTI-3) de outra. Foram coletados cateteres de pacientes maiores de 18 anos internados em UTI e com o dispositivo por mais de 24 horas. Os cateteres foram coletados sob condições assépticas, tiveram suas pontas cortadas e foram transportados para o laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Campus Toledo, onde foram processados e analisados.

### **Cultura dos cateteres**

Cada ponta de cateter coletado foi submetida à cultura microbiológica por dois métodos: o semi-quantitativo de Maki, Weise e Serafin (1977)<sup>26</sup> e o quantitativo de Brun-Buisson et al. (1987).<sup>27</sup>

### **Método semi-quantitativo**

Um fragmento de 2 cm da porção distal do cateter foi transferido para uma placa de Petri contendo 25 mL de meio ágar sangue de carneiro a 5%, onde foi rolado com o auxílio de uma pinça para frente e para trás de quatro a cinco vezes sobre a superfície do meio. A placa de Petri foi incubada a  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  e examinada diariamente por até 72 horas. Após o período de incubação, foi determinado o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por placa. Um número de colônias detectadas maior ou igual a 15 UFC por placa indicava amostras de CVC colonizadas, e se menor que 15 UFC por placa, os cateteres foram considerados contaminados.<sup>26</sup>

### **Método quantitativo**

Outro fragmento de 2 cm da extremidade do cateter foi colocado em um tubo Falcon de 15 mL e preso com auxílio de uma pinça. Foi gotejado 1,0 mL de água destilada esterilizada sobre o fragmento, fazendo com que o líquido passasse pelo lúmen interno do cateter. Em seguida, o tubo foi homogeneizado em agitador vórtex por um minuto. Foi então retirada uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  da suspensão, que foi semeada sobre a superfície de uma placa de Petri contendo meio ágar sangue de carneiro a 5%. A placa foi incubada a  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  e examinada diariamente por até 72 horas. Após o período de incubação, foi determinado o número de UFC por placa e as contagens correlacionadas com a diluição inicial 1/10. O resultado foi expresso como UFC por mililitro ( $\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Foram considerados como cateteres colonizados os que apresentaram contagens iguais ou superiores a  $10^3 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$  e como contaminados, os que apresentaram contagens inferiores a  $10^3 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ .<sup>27</sup>



**Figura 10:** A: Método semi-quantitativo – rolagem da ponta de cateter sobre ágar sangue de carneiro a 5% com pinça estéril; B: Método quantitativo – gotejamento de água destilada pelo lúmen interno da ponta de cateter.

### Identificação dos micro-organismos isolados

Todos os tipos de colônias evidenciadas nas placas primárias da cultura de cateter usando as técnicas semi-quantitativa e quantitativa, foram inoculadas em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI). Após um período de incubação de 12 a 24 horas a  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  os micro-organismos foram corados utilizando-se coloração de Gram e repicados em ágar MacConkey, ágar nutriente e ágar manitol sal. Além da observação do crescimento seletivo e diferencial, as bactérias isoladas foram identificadas utilizando provas bioquímicas, e os fungos por meio de caracterização macromorfológica e micromorfológica.

### Estabelecimento do perfil epidemiológico

Foram incluídos no estudo pacientes maiores de 18 anos internados em UTI, com uso do CVC por mais de 48 horas. Os prontuários desses pacientes que tiveram os cateteres coletados foram avaliados para se confrontar o perfil

microbiológico do cateter, a idade, o sexo, o motivo de internamento em terapia intensiva, a presença ou suspeita de infecção (de qualquer origem), o uso de antibióticos, o tempo de uso do cateter e o motivo da retirada do dispositivo (troca, suspeita de infecção, alta ou óbito). Além disso, foi realizado um levantamento de prevalência microbiológica entre as amostras coletadas. As informações levantadas por este estudo serão repassadas para a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) dos hospitais do estudo para que possam monitorar e realizar medidas de controle contra a disseminação dos micro-organismos encontrados.

### **Análise estatística**

Os dados obtidos foram tabelados no programa Microsoft Office Excel 2007 e submetidos à análise estatística de prevalência. A partir dos resultados, foram desenvolvidas as tabelas e as figuras no programa.

Para confrontar os resultados das metodologias semi-quantitativa e quantitativa de cultura microbiológica das pontas de CVC, foi realizado um cálculo de concordância de Kappa, usado para analisar a concordância entre a perspectiva de dois observadores sobre os mesmos dados. Utilizando uma tabela de distribuição de cateteres colonizados, contaminados e sem crescimento em cada um dos métodos de cultura, foi realizado o cálculo do índice de Kappa, que varia de zero a um. A classificação do nível de concordância depende do valor numérico encontrado: insignificante (menor que zero), concordância fraca (0 - 0,2), razoável (0,21 - 0,4), moderada (0,4 - 0,6), forte (0,61 - 0,8) e quase perfeita (0,81 - 1).<sup>30</sup>

## **RECONHECIMENTOS**

Agradecemos às duas instituições de saúde que aceitaram participar dessa pesquisa. Também agradecemos a todos os integrantes das equipes das UTIs, que estiveram disponíveis para a coleta das amostras e dos dados clínicos dos pacientes, bem como para coletar a assinatura dos TCLEs pelos acompanhantes dos pacientes internados. Agradecemos à Cinthia Wendel, pela colaboração nas atividades técnicas dentro do Laboratório de Microbiologia da UFPR – campus Toledo, e ao veterinário Rafael Messias Luiz, por conduzir as coletas de sangue de carneiro, necessárias para confecção do meio de cultura base da pesquisa. Agradecemos aos colegas de projeto Fernanda Morinigo Guevara, Gabrielle Buzin, Eduardo Sônego e Marco Pinheiro pelo auxílio no processamento das amostras.

## **CONTRIBUIÇÕES DO AUTOR**

O. A. S. realizou a coleta e processamento dos cateteres, o tabelamento e a análise dos dados encontrados e a descrição dos resultados e discussão. J. B. W. determinou os métodos e materiais do estudo e revisou os resultados e discussão. Os dois autores submeteram a pesquisa ao Comitê de Ética em Pesquisa, realizaram coleta e processamento das amostras, aprovaram a versão de submissão final desse estudo e se responsabilizam por todas as informações descritas na pesquisa, de acordo com as políticas de autoria estabelecidas pela Revista.

## **INFORMAÇÕES ADICIONAIS**

Os dados obtidos serão repassados para as respectivas UTIs do estudo, para que a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) de cada uma delas possa reforçar medidas profiláticas.

## REFERÊNCIAS

1. Flemming, H. C., Wingender, J. The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* **8**, 623-633 (2010).
2. Romling, U. et al. Microbial biofilm formation: a need to act. *Journal of Internal Medicine* **276**, 98-110 (2014).
3. Rabin, N. et al. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry* **7**, 493-512 (2015).
4. Marino, P. L. Cateteres vasculares. In: Marino, P.L. *Compêndio de UTI*. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 3-16 (2015).
5. Pérez-Zárate, P. et al. Risk factors and biofilm detection on central venous catheters of patients attended at tertiary hospital. *Micron: The International Research and Review Journal for Microscopy* **78**, 33-39 (2015).
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: central line associated blood stream infections - United States, 2001, 2008, and 2009. *Morbidity and Mortality Weekly Report* **60**, 243-248 (2011).
7. Donlan, R. M.; Protocol for Detection of Biofilms on Needleless Connectors Attached to Central Venous Catheters. *Journal of Clinical Microbiology* **39**, 750-753 (2001).
8. Gahlot, R. et al. Catheter-related bloodstream infections. *International Journal of Critical Illness and Injury Science* **4**, 162-167 (2014).
9. Brito, C. S. et al. Etiology and Pathogenesis of Bloodstream Infections Associated with the Use of Long-Term Central Vascular Catheter (CVC) in Patients Who Undergone Gastrointestinal Surgery. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* **11**, 96-99 (2007).

10. Capdevila, J. A. Catheter-Related Infection: An Update on Diagnosis, Treatment, and Prevention. *International Journal of Infectious Diseases* **2**, 230-236 (1998).
11. Mimos, O.; Chopra, V.; Timsit, J. What's new in catheter related infection: skin cleansing and skin antiseptics. *Intensive Care Medicine* **42**, 1784-1786 (2016).
12. Arvaniti, K. Preventing central venous line related bloodstream infections in adult ICUs: Start from the basics and bundle. *Intensive and Critical Care Nursing* **43**, 2-5 (2017).
13. Edwards, J. R. et al. National Healthcare Safety Network (NHSN) Report, data summary for 2006 through 2007, issued November 2008. *American Journal of Infection Control* **36**, 609-626 (2008).
14. Atela, I. et al. Serial Surveillance Cultures of Skin and Catheter Hub Specimens from Critically Ill Patients with Central Venous Catheters: Molecular Epidemiology of Infection and Implications for Clinical Management and Research. *Journal of Clinical Microbiology* **35**, 1784-1790 (1997).
15. Hall-Stoodley, L.; Costerton, J. W.; Stoodley, P. Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology* **2**, 95-108 (2004).
16. Lemol et al. Biofilm Development with an Emphasis on *Bacillus subtilis*. In: ROMEO, T. In: **Bacterial Biofilms: Current topics in Microbiology and Immunology**, 10-25 (2008).
17. Sadoyama, G.; Filho P. P. G.; Comparison Between the Jugular and Subclavian Vein as Insertion Site for Central Venous Catheters: Microbiological Aspects and Risk Factors for Colonization and Infection. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* **7**, 142-148 (2003).

18. Jan-Roblero, J. et al. Staphylococcus Biofilms. In: Dhanasekaran, D.; Thajjudin, N. *Microbial Biofilms: Importance and Applications*, 211-230 (2016).
19. Donlan, R. M. Biofilms on Central Venous Catheters: Is Eradication Possible? In: Romeo, T. *Bacterial Biofilms: Current topics in Microbiology and Immunology*, 133-156 (2008).
20. Lorente, L. et al. Central venous catheter-related infection in a prospective and observational study of 2,595 catheters. *Critical Care* **9**, 631-635 (2005).
21. Arias, S. et al. Epidemiology and mortality of candidemia both related and unrelated to the central venous catheter: a retrospective cohort study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **36**, 501-507 (2017).
22. Andes, D. et al. Development and Characterization of an In Vivo Central Venous Catheter *Candida albicans* Biofilm Model. *Infection and Immunity* **72**, 6023–6031 (2004).
23. Wisplinghoff, H. et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Candida* spp. in the USA: species distribution, clinical features and antifungal susceptibilities. *International Journal of Antimicrobial Agents* **43**, 78-81 (2013).
24. Hawser, S. P.; Douglas, L. J.; Biofilm Formation by *Candida* Species on the Surface of Catheter Materials In Vitro. *Infection and Immunity* **62**, 915-921 (1994).
25. O'Grady, N. P. et al. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections. *Clinical Infectious Diseases* **52**, 162-193 (2011).
26. Maki, D. G.; Weise, C. E.; Sarafin, H. W. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *The New England Journal of Medicine* **296**, 1305-1309 (1977).

27. Brun-Buisson, C. et al. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Archives of Internal Medicine* **147**, 873-877 (1987).
28. Bouza, E.; Burrilo, A.; Muñoz, P. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. *Clinical Microbiology and Infection* **8**, 265-274 (2002).
29. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde (2016-2020), 2016.
30. Landis, J. R.; Koch, C. C. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* **33**, 159-174 (1977).
31. Storti, A. Colonização de cateteres venosos centrais por biofilme microbiano. Tese (Doutorado em Análises Clínicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista. São Paulo, 1-140 (2006).
32. Dos Santos, S. F. et al. Ações de enfermagem na prevenção de infecções relacionadas ao cateter venoso central: uma revisão integrativa. *Revista SOBECC* **19**, 219-225 (2014).
33. Machado, J. D. C. et al. Pacientes assintomáticos apresentam infecção relacionada ao cateter venoso utilizado para terapia nutricional parenteral. *Revista de Nutrição* **22**, 787-793 (2009).
34. Trautnet, B. W.; Darouiche, R. O. Catheter-Associated Infections: Pathogenesis Affects Prevention. *Archives of Internal Medicine* **164**, 842-850 (2004).
35. Wagner, J. et al. Microbiological screening for earlier detection of central venous catheter-related bloodstream infections. *European Journal of Clinical Investigation* **43**, 964-969 (2013).

36. Safdar, N.; Maki, D. G. The pathogenesis of catheter-related bloodstream infection with noncuffed short-term central venous catheters. *Intensive Care Medicine* **30**, 62-67 (2004).
37. Frasca, D.; Dayhot-Fizelier, C.; Mimos, O. Prevention of central venous catheter-related infection in the intensive care unit. *Critical Care* **14**, 1-8 (2010).
38. Petrea, R. E. et al. Acute Stroke, Catheter Related Venous Thrombosis, and Paradoxical Cerebral Embolism: Report of Two Cases. *Journal of Neuroimaging* **23**, 111-114 (2013).
39. Bowdle, A. Vascular Complications of Central Venous Catheter Placement: Evidence-Based Methods for Prevention and Treatment. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* **28** (2014).
40. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Caderno 4. Brasília: 2013.
41. Apisarnthanarak, A. et al. Is Central Venous Catheter Tips' Colonization with Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* a Predictor for Bacteremia? *Clinical Infectious Diseases* **52**, 1080-1082 (2011).
42. Mann, E. E.; Wosniak, D. J. *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiology Reviews* **36**, 893-916 (2012).
43. Harmsen, M. et al. An update on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, tolerance, and dispersal. *Pathogens and Disease* **59**, 253-268 (2010).
44. Tumbarello, M. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: risk factors and mortality. *Epidemiology and Infection* **139**, 1740-1749 (2011).

45. Geffers, C. et al. Use of Central Venous Catheter and Peripheral Venous Catheter as Risk Factors for Nosocomial Bloodstream Infection in Very-Low-Birth-Weight Infants. *Infection Control and Hospital Epidemiology* **31**, 395-401 (2010).
46. King, P. *Haemophilus influenzae* and the lung (*Haemophilus* and the lung). *Clinical and Translational Medicine* **14**, 1-9 (2012).
47. Laupland, K. B. Epidemiology of *Haemophilus influenzae* bacteremia: A multi-national population-based assessment. *Journal of Infection* **62**, 142-148 (2011).
48. Howard, A. et al. *Acinetobacter baumannii*. *Virulence* **3**, 243-250 (2012).
49. Manchanda, V.; Sanchaita, S; Singh, N. P. Multidrug Resistant *Acinetobacter*. *Journal of Global Infectious Diseases* **2**, 291-304 (2010).
50. Jacobsen, S. M. et al. Complicated Catheter-Associated Urinary Tract Infections Due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical Microbiology Reviews* **21**, 26-59 (2008).
51. Teinallon, O. et al. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* **8**, 207-217 (2010).
52. Mollee, P. et al. Catheter-associated bloodstream infection incidence and risk factors in adults with cancer: a prospective cohort study. *Journal of Infection* **78**, 26-30 (2011).
53. Picozzi, S. et al. Do we really know the prevalence of multi-drug resistant *Escherichia coli* in the territorial and nosocomial population? *Urology Annals* **5**, 25-29 (2013).
54. Vuotto, C. et al. Antibiotic Resistance Related to Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Pathogens* **3**, 743-758 (2014).
55. Paczosa, M. K.; Mecsas, J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **80**, 629-661 (2016).

56. Ben-David, D. et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clinical Microbiology and Infections* **18**, 54-60 (2011).
57. Hollenbeck, B. L.; Rice, L. B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence* **3**, 421-569 (2012).
58. Arias, C. A.; Murray, B. E. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nature Review Microbiology* **10**, 266-278 (2012).
59. Aebi, C. *Moraxella catarrhalis* – Pathogen or Commensal? *Advances in Experimental Medicine and Biology* **697**, 107-116 (2011).
60. Han, X. Y.; Tarrand, J. J. *Moraxella osloensis* Blood and Catheter Infections During Anticancer Chemotherapy: Clinical and Microbiologic Studies of 10 Cases. *American Journal of Clinical Pathology* **121**, 581-587 (2004).
61. Torres, A. et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia. *European Respiratory Journal* **50**, 1-26 (2017).
62. Bhattacharya, S.; Mondal, A. S. Clinical microbiology in the intensive care unit: Strategic and operational characteristics. *Indian Journal of Medical Microbiology* **28**, 5-10 (2010).
63. Gorrie, C. L. et al. Gastrointestinal Carriage Is a Major Reservoir of *Klebsiella pneumoniae* Infection in Intensive Care Patients. *Clinical Infectious Diseases* **65**, 208-215 (2017).
64. Esperatti, M. et al. Nosocomial Pneumonia in the Intensive Care Unit Acquired by Mechanically Ventilated versus Nonventilated Patients. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **182**, 1533-1539 (2010).

65. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2014 National and State Healthcare-Associated Infections Progress Report (2016).
66. Procópio, R. E. L. et al. Characterization of a small cryptic plasmid from endophytic *Pantoea agglomerans* and its use in the construction of an expression vector. *Genetic Molecular Biology* **34**, 103-109 (2011).
67. Magnani, M. et al. Molecular identification of *Aspergillus* spp. isolated from coffee beans. *ScientiaAgricola* **62**, 45-49 (2005).

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existe uma importância no conhecimento da microbiota específica de uma UTI. Nesse contexto, esta pesquisa traz uma alternativa para caracterização microbiana dos CVC usados nas unidades em estudo, para que haja preparo da equipe na prevenção, na identificação e no tratamento precoce de infecções decorrentes da formação de biofilmes em cateteres.

Com base na literatura e nos dados observados nesse estudo, o principal mecanismo de patogênese envolvido na formação de biofilmes em CVC é a migração de micro-organismos a partir da microbiota da pele, portanto a antisepsia adequada do sítio de inserção continua sendo a principal ferramenta de prevenção da colonização microbiana desses dispositivos.

Além disso, não foi observada relevância expressiva na formação de biofilmes por tempo de permanência do cateter. É importante ressaltar a necessidade de inspeção diária do sítio de inserção por um profissional da saúde para que haja remoção somente sob suspeita de infecção ou outras indicações específicas, a fim de impedir consequências da colonização microbiana. Ao mesmo tempo, deve-se evitar a remoção precoce e desnecessária do CVC, pois a manipulação excessiva do dispositivo também pode levar à contaminação e consequente colonização por micro-organismos.

Os dados obtidos serão repassados para as respectivas UTIs do estudo, para que a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) de cada uma delas possa reforçar medidas profiláticas e, assim, manter qualidade no atendimento e na saúde dos pacientes internados, dentro do possível.

## REFERÊNCIAS

AEBI, C. *Moraxella catarrhalis* – Pathogen or Commensal? **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 697, p. 107-116, ago. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Caderno 4. Brasília: 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde (2016-2020), nov. 2016.

ANDES, D. et al. Development and Characterization of an In Vivo Central Venous Catheter Candida albicans Biofilm Model. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 10, p. 6023–6031, out. 2004.

APISARNTHANARAK, A. et al. Is Central Venous Catheter Tips' Colonization with Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii a Predictor for Bacteremia? **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 8, p. 1080-1082, abr. 2011.

ARIAS, C. A.; MURRAY, B. E. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. **Nature Review Microbiology**, v. 10, p. 266-278, mar. 2012.

ARIAS, S. et al. Epidemiology and mortality of candidemia both related and unrelated to the central venous catheter: a retrospective cohort study. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, p. 501-507, mar. 2017.

ATELA, I. et al. Serial Surveillance Cultures of Skin and Catheter Hub Specimens from Critically Ill Patients with Central Venous Catheters: Molecular Epidemiology of Infection and Implications for Clinical Management and Research. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 35, p. 1784-1790, jul. 1997

BEN-DAVID, D. et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. **Clinical Microbiology and Infections**, v. 18, p. 54-60, fev. 2011.

BHATTACHARYA, S.; MONDAL, A. S. Clinical microbiology in the intensive care unit: Strategic and operational characteristics. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 28, n. 1, p. 5-10, jan. 2010.

BOUZA, E.; BURILLO, A.; MUÑOZ, P. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 8, p. 265-274, mai. 2002.

BOWDLE, A. Vascular Complications of Central Venous Catheter Placement: Evidence-Based Methods for Prevention and Treatment. **Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia**, v. 28, n. 2, abr. 2014.

BRITO, C. S. et al. Etiology and Pathogenesis of Bloodstream Infections Associated with the Use of Long-Term Central Venous Catheter (CVC) in Patients Who Undergone Gastrointestinal Surgery. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador. v. 11, p. 96-99, fev. 2007.

BRUN-BUISSON, C. et al. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. **Archives of Internal Medicine**, v. 147, p. 873-877, mai 1987.

CAPDEVILA, J. A. Catheter-Related Infection: An Update on Diagnosis, Treatment, and Prevention. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 2, abr. 1998.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Vital signs: central line associated blood stream infections - United States, 2001, 2008, and 2009. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 60, p. 243-248, mar. 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). 2014 National and State Healthcare-Associated Infections Progress Report, mar. 2016.

COSTERTON, J. W.; GEESEY, G. G.; CHENG, K. J. How bacteria stick. **Scientific American: Science News, Articles and Informations**. v. 238, p. 86-95, 1978.

DONLAN, R. M. Biofilms on Central Venous Catheters: Is Eradication Possible? In: ROMEO, T. Bacterial Biofilms: Current topics in Microbiology and Immunology. 2008 p. 133-156.

DONLAN, R. M.; Protocol for Detection of Biofilms on Needleless Connectors Attached to Central Venous Catheters. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, p. 750-753, fev. 2001.

DOS SANTOS, S. F. et al. Ações de enfermagem na prevenção de infecções relacionadas ao cateter venoso central: uma revisão integrativa. **Revista SOBECC**, v. 19, n. 4, p. 219-225, dez. 2014.

EDWARDS, J. R. et al. National Healthcare Safety Network (NHSN) Report, data summary for 2006 through 2007, issued November 2008. **American Journal of Infection Control**, v. 36, n. 9, nov. 2008.

ESPERATTI, M. et al. Nosocomial Pneumonia in the Intensive Care Unit Acquired by Mechanically Ventilated versus Nonventilated Patients. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 182, p. 1533-1539, ago. 2010.

FLEMMING, H. C., WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, p. 623-633, set. 2010.

FRASCA, D.; DAYHOT-FIZELIER, C.; MIMOZ, O. Prevention of central venous catheter-related infection in the intensive care unit. **Critical Care**, v. 14, n. 2, p. 1-8, mar. 2010.

GAHLOT, R. et al. Catheter-related bloodstream infections. **International Journal of Critical Illness and Injury Science**. v. 4, p. 162-167, abr. 2014.

GEFFERS, C. et al. Use of Central Venous Catheter and Peripheral Venous Catheter as Risk Factors for Nosocomial Bloodstream Infection in Very-Low-Birth-Weight Infants. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 31, n. 4, p. 395-401, abr. 2010.

GORRIE, C. L. et al. Gastrointestinal Carriage Is a Major Reservoir of *Klebsiella pneumoniae* Infection in Intensive Care Patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, p. 208-215, jul. 2017.

HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J. W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 95-108, 2004.

HAN, X. Y.; TARRAND, J. J. *Moraxella osloensis* Blood and Catheter Infections During Anticancer Chemotherapy: Clinical and Microbiologic Studies of 10 Cases. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 121, n. 4, p. 581-587, jan. 2004.

HARMSSEN, M. et al. An update on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, tolerance, and dispersal. **Pathogens and Disease**, v. 59, n. 3, p. 253-268, ago. 2010.

HAWSER, S. P.; DOUGLAS, L. J.; Biofilm Formation by Candida Species on the Surface of Catheter Materials In Vitro. *Infection and Immunity*, v. 62, p. 915-921, mar. 1994.

HOLLENBECK, B. L.; RICE, L. B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. **Virulence**, v. 3, n. 5, p. 421-569, ago. 2012.

HOWARD, A. et al. *Acinetobacter baumannii*. **Virulence**, v. 3, n. 3, p. 243-250, mai. 2012.

JACOBSEN, S. M. et al. Complicated Catheter-Associated Urinary Tract Infections Due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 1, p. 26-59, jan. 2008.

JAN-ROBLERO, J. et al. Staphylococcus Biofilms. In: DHANASEKARAN, D.; THAJJUDIN, N. **Microbial Biofilms: Importance and Applications**. 2016 p. 211-230.

KING, P. *Haemophilus influenzae* and the lung (*Haemophilus* and the lung). **Clinical and Translational Medicine**, v. 14, n. 10, p. 1-9, jun. 2012.

LAI, N. M., CHAIYAKUNAPRUK, N., LAI N. A., O'RIORDAN E., PAU W. S. C., SAINT S. Catheter impregnation, coating or bonding for reducing central venous catheter-related infections in adults. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. ed. 3, mar. 2016.

LANDIS, J. R.; KOCH, C. C. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, n. 1, p. 159-174, mar. 1977.

LAUPLAND, K. B. Epidemiology of *Haemophilus influenzae* bacteremia: A multi-national population-based assessment. **Journal of Infection**, v. 62, n. 2, p. 142-148, fev. 2011.

LEMON et al. Biofilm Development with an Emphasis on *Bacillus subtilis*. In: ROMEO, T. **Bacterial Biofilms: Current topics in Microbiology and Immunology**. p. 10-25. 2008.

LORENTE, L. et al. Central venous catheter-related infection in a prospective and observational study of 2,595 catheters. **Critical Care**, v. 9, n. 6, p. R631-R635.

MACHADO, J. D. C. et al. Pacientes assintomáticos apresentam infecção relacionada ao cateter venoso utilizado para terapia nutricional parenteral. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 6, p. 787-793, dez. 2009.

MAGNANI, M. et al. Molecular identification of *Aspergillus* spp. isolated from coffee beans. **ScientiaAgricola**, v. 62, no. 1, p. 45-49, jan. 2005.

MAKI, D. G.; WEISE, C. E.; SARAFIN, H. W. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 296, p. 1305-1309, jun 1977.

MANCHANDA, V.; SANCHAITA, S; SINGH, N. P. Multidrug Resistant *Acinetobacter*. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 2, n. 3, p. 291-304, dez. 2010.

MANN, E. E.; WOSNIAK, D. J. *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 1, p. 893-916, jul. 2012.

MARINO, P. L. Cateteres vasculares. In: MARINO, P.L. **Compêndio de UTI**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. p. 3-16.

MIMOZ, O.; CHOPRA, V.; TIMSIT, J. What's new in catheter related infection: skin cleansing and skin antisepsis. **Intensive Care Medicine**, v. 42, p. 1784-1786, fev. 2016.

MOLLEE, P. et al. Catheter-associated bloodstream infection incidence and risk factors in adults with cancer: a prospective cohort study. **Journal of Infection**, v. 78, n. 1, p. 26-30, mai. 2011.

MORROW, L. E.; KOLLEF, M. H. Recognition and prevention of nosocomial pneumonia in the intensive care unit and infection control in mechanical ventilation. **Critical Care Medicine**, v. 38, p. 352-362, ago. 2010.

O'GRADY, N. P. et al. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, p. 162-193. mai 2011.

PACZOSA, M. K.; MECSAS, J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 3, p. 629-661, jun. 2016.

PARSEK, M. R.; SINGH, P. K. Bacterial Biofilms: An Emerging Link to Disease Pathogenesis. **Annual Review of Microbiology**, v. 57, p. 677-701, out. 2003.

PÉREZ-ZÁRATE, P. et al. Risk factors and biofilm detection on central venous catheters of patients attended at tertiary hospital. **Micron: The International Research and Review Journal for Microscopy**, v. 78, p. 33-39, nov. 2015.

PETREA, R. E. et al. Acute Stroke, Catheter Related Venous Thrombosis, and Paradoxical Cerebral Embolism: Report of Two Cases. **Journal of Neuroimaging**, v. 23, n. 1, jan. 2013.

PICOZZI, S. et al. Do we really know the prevalence of multi-drug resistant *Escherichia coli* in the territorial and nosocomial population? **Urology Annals**, v. 5, n. 1, p. 25-29, mar. 2013.

PROCÓPIO, R. E. L. et al. Characterization of a small cryptic plasmid from endophytic *Pantoea agglomerans* and its use in the construction of an expression vector. **Genetic Molecular Biology**, v. 34, p. 103-109, mar 2011.

RABIN, N. et al. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. **Future Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 493-512, mar. 2015.

ROMLING, U. et al. Microbial biofilm formation: a need to act. **Journal of Internal Medicine**. v. 276, p. 98-110, mai 2014.

SADOYAMA, G.; FILHO P. P. G.,; Comparison Between the Jugular and Subclavian Vein as Insertion Site for Central Venous Catheters: Microbiological Aspects and Risk Factors for Colonization and Infection. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador. v. 7, p. 142-148, abr. 2003.

SAFDAR, N.; MAKI, D. G. The pathogenesis of catheter-related bloodstream infection with noncuffed short-term central venous catheters. **Intensive Care Medicine**, v. 30, n. 1, p. 62-67, jan. 2004.

STORTI, A. **Colonização de cateteres venosos centrais por biofilme microbiano**. Tese (Doutorado em Análises Clínicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista. São Paulo, p. 1-140. 2006.

TENAILLON, O. et al. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, p. 207-217, mar. 2010

TORRES, A. et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia. **European Respiratory Journal**, v. 50, p. 1-26, ago. 2017.

TRAUTNER, B. W.; DAROUICHE, R. O. Catheter-Associated Infections: Pathogenesis Affects Prevention. **Archives of Internal Medicine**, v. 164, p. 842-850, abr. 2004.

TUMBARELLO, M. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: risk factors and mortality. **Epidemiology and Infection**, v. 139, n. 11, p. 1740-1749, jan. 2011.

VUOTTO, C. et al. Antibiotic Resistance Related to Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae*. **Pathogens**, v. 3, n. 3, p. 743-758, set. 2014.

WAGNER, J. et al. Microbiological screening for earlier detection of central venous catheter–related bloodstream infections. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 43, n. 9, p. 964-969, jul. 2013.

WASSIL, S. K., CRILL, C. M., PHELPS, S. J. Antimicrobial Impregnated Catheters in the Prevention of Catheter-Related Bloodstream Infection in Hospitalized Patients. **The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics**, v. 12, p. 77-90, abr. 2007.

WISPLINGHOFF, H. et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Candida* spp. in the USA: species distribution, clinical features and antifungal susceptibilities. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 43, p. 78-81, set. 2013.

**APÊNDICE 1 – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS DOS PACIENTES**

1. Código do paciente: \_\_\_\_\_
2. Data da coleta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
3. Sexo: (    ) Masculino                      (    ) Feminino
4. Idade: \_\_\_\_\_ anos
5. Motivo do internamento em UTI: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
6. Possui infecção ou suspeita de infecção? (    ) Sim                      (    ) Não
7. Houve administração de antibióticos? (    ) Sim. Qual(ais)? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ (    ) Não.
8. Há resultados de hemocultura? (    ) Sim. Qual(ais)? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ (    ) Não.
9. Qual o tempo de internamento na UTI? \_\_\_\_\_
10. Quanto tempo ficou com o cateter? \_\_\_\_\_
11. Qual foi o motivo da retirada do cateter? \_\_\_\_\_
12. Já trocou o cateter anteriormente? Por quê? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
13. Qual o tipo/material do cateter utilizado? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Juliana Bernardi Wenzel (professora/orientadora), Ana Carla Zarpelon, Ana Paula Carneiro Brandalize (professoras colaboradoras), Otávio Augusto Scariotto, Eduardo Santos Sônego, Fernanda Morinigo Guevara, Gabrielle Buzin e Marco André Reis Pinheiro (alunos de graduação) da Universidade Federal do Paraná, solicitamos sua permissão para coletarmos o cateter que será retirado de seu familiar para um estudo intitulado. "Colonização de cateteres por biofilme microbiano e prospecção de novos compostos contra biofilmes". Micro-organismos (bactérias e fungos) são capazes de formar películas (biofilmes) difíceis de combater em cateteres venosos nos hospitais, e este estudo pretende identificar esses micro-organismos e buscar maneiras de eliminá-los.

a) O objetivo desta pesquisa é identificar os micro-organismos que formam biofilmes em cateteres venosos centrais e testar fungos isolados de plantas medicinais para combatê-los.

b) Para que você, familiar do paciente, possa contribuir com a pesquisa, será necessário sua permissão para nós ficarmos com o cateter venoso central que havia sido colocado no(a) paciente na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Esse cateter será removido pela equipe médica caso tenha suspeita de infecção, caso esteja na hora de trocá-lo ou caso o(a) paciente saia da UTI, seja por alta ou por óbito. Um pedaço do cateter será cortado e entregue a um dos pesquisadores para análise. Também precisamos de sua permissão para ler o prontuário médico do(a) paciente, ter acesso ao resultado de possíveis hemoculturas (exame de sangue) que a equipe médica tenha feito e usar os dados para a pesquisa, sem identificarmos o(a) paciente.

c) Para tanto você deverá comparecer no Hospital Dr. Campagnolo, situado a rua Nossa Senhora do Rocio, 1810 - Centro - Toledo, PR, para esclarecer dúvidas quanto a este termo e entregá-lo assinado, após leitura e consentimento, o que levará aproximadamente 5 minutos.

d) Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser o constrangimento de sabermos a doença do(a) paciente. Para isso, os pacientes não serão identificados pelo nome, e sim por um código.

e) Os benefícios esperados com essa pesquisa são descobrir os micro-organismos que colonizaram o cateter e testar alternativas de combatê-los. Benefícios indiretos podem ser a descoberta de quais bactérias e fungos mais colonizam os cateteres, para nós informarmos a equipe médica da UTI, que estará mais preparada para combatê-los; também testaremos compostos de fungos de plantas medicinais contra esses micro-organismos que formaram biofilmes.

f) Os pesquisadores Juliana Bernardi Wenzel (professora/orientadora), Ana Carla Zarpelon, Ana Paula Carneiro Brandalize (professoras colaboradoras) Otávio Augusto Scariotto, Eduardo Santos Sônego, Fernanda Morinigo Guevara, Gabrielle Buzin, Marco André Reis Pinheiro (alunos de graduação) responsáveis por este estudo poderão ser localizados na Universidade Federal do Paraná, campus Toledo, localizada na Rodovia PR-182, km 320/321, BIOPARK, Toledo (Paraná); ou pelos e-mails: [julianawenzel@ufpr.br](mailto:julianawenzel@ufpr.br), [ana.zarpelon@ufpr.br](mailto:ana.zarpelon@ufpr.br), [anapaulabrandalize@ufpr.br](mailto:anapaulabrandalize@ufpr.br), [otavioscariotto@ufpr.br](mailto:otavioscariotto@ufpr.br), [sonegosantos@gmail.com](mailto:sonegosantos@gmail.com), [fernanda.morinigo@hotmail.com](mailto:fernanda.morinigo@hotmail.com), [gabibuzin@hotmail.com](mailto:gabibuzin@hotmail.com), [marcopinheiro@ufpr.br](mailto:marcopinheiro@ufpr.br); ou pelos números de telefone: (45) 99957-0927, (45) 99931-4291, (45) 99104-0240, (45)998329922, (65)998017724, (67)996160983, (46)991408330, (45)988113761, no horário das 08h:00min às 18h:00min para esclarecer eventuais dúvidas

que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

g) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas. Os pesquisadores Juliana Bernardi Wenzel (professora/orientadora), Ana Carla Zarpelon, Ana Paula Carneiro Brandalize (professoras colaboradoras) Otávio Augusto Scariotto, Eduardo Santos Sônego, Fernanda Morinigo Guevara, Gabrielle Buzin, Marco André Reis Pinheiro (alunos de graduação) responsáveis por este estudo, além da enfermeira responsável pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do Hospital Dr. Campagnolo, Alcione Correia de Lima terão acesso as informações. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a **sua identidade seja preservada e mantida sua confidencialidade**.

h) O material obtido - o cateter venoso central do(a) paciente - será utilizado unicamente para essa pesquisa e será destruído/descartado em lixo biológico da Universidade Federal do Paraná (Campus Toledo) ao término do estudo, dentro de um mês.

i) As despesas necessárias para a realização da pesquisa com transporte do material coletado e com os materiais de laboratório utilizados não são de sua responsabilidade e você não receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação.

j) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

k) Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP/SD) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone (41) 3360-7259. O Comitê de Ética em Pesquisa é um órgão colegiado multi e transdisciplinar, independente, que existe nas instituições que realizam pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil e foi criado com o objetivo de proteger os participantes de pesquisa, em sua integridade e dignidade, e assegurar que as pesquisas sejam desenvolvidas dentro de padrões éticos (Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde).

Eu, \_\_\_\_\_, li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Toledo, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_ .

---

Assinatura do Participante de Pesquisa ou Responsável Legal

---

Assinatura do Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE

# ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BIOFILMS AND MICROBIOMES (NATURE PARTNERS JOURNAL)

Updated December 5<sup>th</sup>, 2018



|  |   |
|--|---|
| Relationship to other Nature Research journals ..... | 1 |
| Content Types .....                                  | 1 |
| Editorial and Publishing Policies .....              | 1 |
| Initial Submission .....                             | 1 |

This document will help you when preparing your manuscript for initial submission and resubmission to a Nature Partner Journal. Please ensure that you familiarise yourself with our editorial policies as outlined in this section before submitting your work. An overview of key information on submitting primary research is also available in our [brief guide to manuscript submission](#) in PDF format.

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| Formatting .....                  | 2 |
| Resubmission .....                | 5 |
| Peer Review and Publication ..... | 6 |
| Post-Acceptance .....             | 7 |

Once you have prepared your manuscript, the [Initial Submission](#) section will provide you with information on the submission system, while our editorial criteria and processes are described in the [Peer review and publication](#) section.

For information on the journal aims & scope, as well as content types, please refer to the About the Journal section on the individual journal website.

## Relationship to other Nature Research journals

The Nature Partner Journals are open access, online-only, Nature Research journals published by Springer Nature in collaboration with internationally renowned partners.

Each Nature Partner Journal is editorially independent. The editors make their own decisions, independently of the other Nature Research journals.

If a paper is rejected from one Nature Research journal, the authors can use an automated manuscript transfer

service to submit the paper to another journal via a link sent to them by the editor handling the manuscript.

For more information, please consult the following:

[Details of the manuscript transfer service](#)

[Listing of all Nature journals](#)

[A general explanation of the relationship between Nature Research titles](#)

## Content Types

Please refer to the About the Journal section on the individual journal website for details on what content types are considered.

## Editorial and Publishing Policies

As part of Nature Research, the Nature Partner Journals follow a number of common policies as detailed in our [authors and referees](#) site and we request that our authors and prospective authors abide by them.

In particular, when you submit a manuscript to the Nature Partner Journals its content must not significantly overlap with any other papers from you or your co-authors' groups that are under consideration or in press at other journals, with the exception of conference abstracts. We do, however, support the posting of the pre-review version of the manuscript on preprint servers.

If you submit a related manuscript to any other journal while the submission to a Nature Partner Journal is under consideration, you must send us a copy of the related manuscript and details of its progress towards publication. We reserve the right to decline publication of a paper even after it has been accepted if it becomes apparent that there are serious problems with the scientific content or violations of our publishing policies.

Some of our policies you need to familiarise yourself with are listed below:

- [Author responsibilities](#)
- [Duplicate publication](#)
- [Confidentiality and pre-publicity](#)
- [Plagiarism and fabrication](#)
- [Competing interests](#)
- [Licence agreement and author copyright](#)
- [Embargo policy and press releases](#)
- [Availability of materials and data](#)
- [Digital image integrity and standards](#)
- [Refutations, complaints and corrections](#)
- [Compliance with open access mandates](#)
- [Security concerns](#)
- [Correction and retraction](#)
- [Use of experimental animals and human subjects](#)

## Initial Submission

We do not request manuscripts to be formatted in Nature Partner Journals' style for initial submissions, as long as the study is described in a fashion that is suitable for editorial assessment and peer review.

You can submit either a single PDF file that includes the manuscript text and any display items, or separate files for text, figures and tables. Besides the manuscript files,

you should also provide a cover letter addressed to the editors and any supplementary information.

### Presubmission inquiries

If you are unsure whether your paper is in scope for a Nature Partner Journal, you can submit a pre-submission enquiry, providing at least an abstract of your work.

# ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BIOFILMS AND MICROBIOMES (NATURE PARTNERS JOURNAL)

Updated December 5<sup>th</sup>, 2018



## Manuscript files

The manuscript file must contain the following essential information:

- Names and affiliations of all co-authors. The primary affiliation for each author should be the institution where the majority of their work was done. If an author has subsequently moved, the current address may also be stated. The corresponding author should be identified with an asterisk.
- A detailed description of the findings of the work (by means of text and display items), including sufficient information on methods and materials which would enable replication of the study by a fellow expert. As a guideline, the text should be structured in broad sections (abstract, introduction, results, discussion, methods).
- References to previous works.

If the manuscript includes personal communications, please provide a written statement of permission from any person who is quoted. E-mail permission messages are acceptable.

Our formatting requirements are detailed below, and information on sections, length limits and figure limits are detailed in the 'About the Journal' page on each journal website according to content type. While we do not ask you to comply with these requirements for initial submissions, they will be enforced prior to acceptance of the work. We accept manuscripts in PDF, Word or TeX/LaTeX formats; if you are using TeX/LaTeX, we prefer that you submit compiled PDFs up until the pre-acceptance stage. All textual content should be provided in a single file; figures should be provided in individual files (see below).

## Supplementary information

Any information (including display items) not directly related to the description of the main findings, but needed to properly understand and replicate the study, should be included in a supplementary information file, which can be submitted as a PDF, Word or TeX/LaTeX document. The supplementary information document will be sent to peer reviewers alongside the manuscript file.

## Language

Papers submitted to the Nature Partner Journals should be accessible to non-specialists; you should ensure that your findings are communicated clearly. Although a shared basic knowledge of scientific language may be

assumed, please bear in mind that the language and concepts that are standard in one subfield may be unfamiliar to colleagues working in another area. Thus, technical jargon should be avoided as far as possible and clearly explained where its use is unavoidable. Abbreviations should be kept to a minimum and should be defined at their first occurrence. The background, rationale and main conclusions of the study should be clearly explained. Titles and abstracts in particular should be written in language that will be readily intelligible to any scientists.

No paper will be rejected for poor language. However, if you would like assistance with writing your manuscript, you can consider asking colleagues for their input and/or use a professional editing service such as those provided by our affiliates [Nature Research Editing Service](#) or [American Journal Experts](#). The use of a language editing service has no bearing on editorial decisions and is not a requirement for publication.

## Cover letter

Providing a cover letter can help you convey the work's importance to the editors and explain why you consider it appropriate for the readership of a particular Nature Partner Journal. You must disclose details of any related manuscripts that you have under consideration or in press elsewhere, and you can provide suggested reviewers to include, or ask individuals to be excluded from peer review (explaining why). Finally, you should indicate whether you have had any prior discussions with a Nature Partner Journal editor about the work described in the manuscript. The cover letter is not transmitted to peer reviewers.

## Life sciences reporting guidelines

To improve the transparency of reporting and the reproducibility of published results, authors of life sciences research articles must provide a completed [reporting summary](#) that will be made available to editors and reviewers during manuscript assessment. The reporting summary will be published with all accepted manuscripts.

All authors must also complete an [editorial policy checklist](#) to ensure compliance with Nature Research editorial policies.

Please note: because of the advanced features used in these forms, you must use [Adobe Reader](#) to open the documents and fill them out.

Guidance and resources related to the use and reporting of statistics for life sciences are available [here](#).

## Formatting

The manuscript text file should include the following parts, in order: a title page with author names, affiliations and contact information (the corresponding author should be identified with an asterisk); the sections required for each content type, then Acknowledgements (optional), Author Contributions, Competing Interests statement, References, Figure Legends, and Tables.

## Word

The Nature Partner Journals do not use a manuscript template for Word documents. The manuscript file should

be formatted as double-spaced, single-column text without justification. Pages should be numbered using an Arabic numeral in the footer of each page. Standard fonts are recommended and the 'symbols' font should be used for representing Greek characters.

## TeX/LaTeX

To submit a TeX/LaTeX file, please use any of the standard class files such as `article.cls`, `revtex.cls` or `amsart.cls`. All textual material should be provided as a single file in default Computer Modern fonts. Please avoid

# ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BIOFILMS AND MICROBIOMES (NATURE PARTNERS JOURNAL)

Updated December 5<sup>th</sup>, 2018



non-standard fonts and packages and remove all personal macros before submitting. For graphics, we recommend `graphicx.sty`. Please use numerical references only for citations, and include the references within the manuscript file itself. If you wish to use BibTeX, please copy the reference list from the `.bbl` file, paste it into the main manuscript `.tex` file, and delete the associated `\bibliography` and `\bibliographystyle` commands. Before submission, please ensure that the complete `.tex` file compiles successfully on your own system with no errors or warnings. There is no need to spend time visually formatting the manuscript: our style will be imposed automatically when the paper is prepared for publication.

## Methods

The Methods section should be written as concisely as possible but should contain all elements necessary to allow interpretation and replication of the results.

Authors can deposit the step-by-step protocols used in their study to [Protocol Exchange](#), an open resource maintained by Nature Research. Protocols deposited by the authors will be linked to the Online Methods section upon publication.

The Methods section should be subdivided by short bold headings referring to methods used and we encourage the inclusion of specific subsections for statistics, reagents and animal models.

## New structures

Manuscripts reporting new structures should contain a table summarizing structural and refinement statistics. To facilitate assessment of the quality of the structural data, a stereo image of a portion of the electron density map (for crystallography papers) or of the superimposed lowest energy structures (>10; for NMR papers) should be provided with the submitted manuscript. If the reported structure represents a novel overall fold, a stereo image of the entire structure (as a backbone trace) should also be provided.

## Acknowledgements

Acknowledgements should be brief, and should not include thanks to anonymous referees and editors, or effusive comments. Grant or contribution numbers may be acknowledged.

## Author contributions

Nature Partner Journals require an Author Contribution statement as described in the [Authorship](#) section of our [Editorial policies](#).

## Competing interests

Submission of a signed [Competing Interests Statement](#) is required for all content of the journal. This statement will be published at the end of all articles, whether or not a competing interest is reported.

## References

References are numbered sequentially as they appear in the text, methods, tables, figure legends. Only one publication is given for each number. Only papers that have been published or accepted by a named publication or recognized preprint server should be in the numbered list. Meeting abstracts that are not published and papers in preparation should be mentioned in the text with a list

of authors (or initials if any of the authors are co-authors of the present contribution). Published conference abstracts, numbered patents and research datasets that have been assigned a digital object identifier may be included in the reference list. URLs for web sites should be cited parenthetically in the text, not in the reference list; articles in formal, peer-reviewed online journals should be included in the reference list. Grant details and acknowledgments are not permitted as numbered references. Footnotes are not used.

The Nature Partner Journals use standard *Nature* referencing style. All authors should be included in reference lists unless there are more than five, in which case only the first author should be given, followed by 'et al.'. Authors should be listed last name first, followed by a comma and initials (followed by full stops) of given names. Article titles should be in Roman text, the first word of the title should be capitalized and the title written exactly as it appears in the work cited, ending with a full stop. Book titles should be given in italics and all words in the title should have initial capitals. Journal names are italicized and abbreviated (with full stops) according to common usage. Volume numbers and the subsequent comma appear in bold.

Titles of cited articles are required for all articles. Example: Eigler, D. M. & Schweizer, E. K. Positioning single atoms with a scanning tunnelling microscope. *Nature* **344**, 524-526 (1990).

For book citations, the publisher and city of publication are required. Example: Jones, R. A. L. *Soft Machines: Nanotechnology and Life Ch. 3* (Oxford Univ. Press, Oxford, 2004).

Research datasets may be cited in the reference list if they have been assigned digital object identifiers (DOIs) and include authors, title, publisher (repository name), identifier (DOI expressed as a URL). Example:

Hao, Z., AghaKouchak, A., Nakhjiri, N. & Farahmand, A. Global Integrated Drought Monitoring and Prediction System (GIDMaPS) data sets. Figshare <http://dx.doi.org/10.6084/m9.figshare.853801> (2014).

To cite a preprint, please follow this style: Babichev, S. A., Ries, J. & Lvovsky, A. I. Quantum scissors: teleportation of single-mode optical states by means of a nonlocal single photon. Preprint at <http://arXiv.org/quant-ph/0208066> (2002).

## Figure legends

Figure legends begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used, focusing on describing what is shown in the figure and de-emphasizing methodological details. The meaning of all error bars and how they were calculated should be described. Each legend should total no more than 250 words.

## Tables

Please submit tables at the end of your text document (in Word or TeX/LaTeX, as appropriate). Tables that include statistical analysis of data should describe their standards of error analysis and ranges in a table legend.

# ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BIOFILMS AND MICROBIOMES (NATURE PARTNERS JOURNAL)

Updated December 5<sup>th</sup>, 2018



## Figures

Figures should be numbered separately with Arabic numerals in the order of occurrence in the text of the manuscript. One- or two-column format figures are preferred. When appropriate, figures should include error bars. A description of the statistical treatment of error analysis should be included in the figure or scheme legend.

Figure lettering should be in a clear, sans-serif typeface (for example, Helvetica); if possible, the same typeface in approximately the same font size should be used for all figures in a paper. Use symbol font for Greek letters. All display items should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, spurious decorative effects (such as three-dimensional 'skyscraper' histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. Labelling must be of sufficient size and contrast to be readable, even after appropriate reduction. The thinnest lines in the final figure should be no smaller than one point wide. Reasonable requests to enlarge figures will be considered, but editors will make the final decision on figure size. Authors will see a proof of figures.

Figures divided into parts should be labelled with a lower-case bold a, b, and so on, in the same type size as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with only the first letter of each label capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature (for example, ms rather than msec) or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by commas (1,000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In legends, please use visual cues rather than verbal explanations, such as "open red triangles".

Authors are encouraged to consider the needs of colourblind readers (a substantial minority of the male population) when choosing colours for figures. Many colourblind readers cannot interpret visuals that rely on discrimination of green and red, for example. Thus, we ask authors to recolor green-and-red heatmaps, graphs and schematics for which colours are chosen arbitrarily. Recoloring primary data, such as fluorescence or rainbow pseudo-coloured images, to colour-safe combinations such as green and magenta, turquoise and red, yellow and blue or other accessible colour palettes is strongly encouraged.

Unnecessary figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced on the printed page at the smallest size at which essential details are visible.

When a manuscript is accepted for publication, we will ask for high-resolution figure files, possibly in a different

electronic format. This information will be included in the acceptance letter. See below for [details of digital image production and submission](#).

## Gene nomenclature

Authors should use approved nomenclature for gene symbols, and use symbols rather than italicized full names (*Ttn*, not *titin*). Please consult the appropriate nomenclature databases for correct gene names and symbols. A useful resource is [Entrez Gene](#). Approved human gene symbols are provided by HUGO Gene Nomenclature Committee ([HGNC](#)). Approved mouse symbols are provided by [The Jackson Laboratory](#).

For proposed gene names that are not already approved, please submit the gene symbols to the appropriate nomenclature committees as soon as possible, as these must be deposited and approved before publication of an article.

Avoid listing multiple names of genes (or proteins) separated by a slash, as in '*Oct4/Pou5f1*', as this is ambiguous (it could mean a ratio, a complex, alternative names or different subunits). Use one name throughout and include the other at first mention: '*Oct4* (also known as *Pou5f1*)'.

## Supplementary information

Supplementary information should be submitted with the manuscript and will be sent to referees during peer review. Supplementary information is not copy-edited, so authors should ensure that it is clearly and succinctly presented, and that the style and terminology conform with the rest of the paper. The following guidelines detail the creation, citation and submission of supplementary information. Please note that modification of supplementary information after the paper is published requires a formal correction, so authors are encouraged to check their supplementary information carefully before submitting the final version.

Designate each item as Supplementary Table, Figure, Video, Audio, Notes, Data, Discussion or Equations. Number Supplementary Tables and Figures as, for example, "Supplementary Table 1". This numbering should be separate from that used in tables and figures appearing in the main printed article. Supplementary Notes should not be numbered and can have an optional title. Please provide a title for Supplementary Tables and a title and a caption for Supplementary Figures, Supplementary Video and Supplementary Notes. The latter should only be used in consultation with the editors for specific elements best presented in Supplementary Information, such as standalone descriptions related to methods (for example algorithm description, compound synthesis and characterization). Please note that Supplementary Methods will no longer be allowed.

Refer to each piece of supplementary information at least once within the text of the main article, at the appropriate point(s). Be sure to include the word "Supplementary" each time one is mentioned. Please do not refer to individual panels of supplementary figures.

Please also ensure that, where relevant, the appropriate reporting guidance checklist (e.g. CONSORT for randomised controlled trials, PRISMA for systematic

# ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BIOFILMS AND MICROBIOMES (NATURE PARTNERS JOURNAL)

Updated December 5<sup>th</sup>, 2018



reviews, and STROBE for cohort, case-control and cross-sectional studies) has been completed and submitted as a supplementary file. These can be obtained from <http://www.equator-network.org>.

Figure files should be submitted as web-ready files through the online submission system. With the exception of spreadsheet, audio and video files, please submit the supplementary information as a single combined PDF, if possible. If necessary, we can accept any of these formats:

- .txt | Plain ASCII text
- .gif | GIF image
- .htm, .html | HTML document
- .doc, .docx | MS Word document
- .jpg | JPEG image
- .swf | Flash movie
- .xls, .xlsx | MS Excel spreadsheet
- .pdf | Adobe Acrobat file
- .mov | QuickTime movie
- .ppt, .pptx | MS Power Point slide
- .wav | Audio file
- Compressed Archive File (.zip),
- Encapsulated Postscript (.eps),
- MPEG animation (.mpg),

If you have been invited to revise and resubmit your paper, you should follow the instructions provided by the editor in their decision email. You will be expected to provide: a revised version of the manuscript that addresses the issues raised by the peer reviewers; a response to each of the reviewers, replying to their comments in a point-by-point fashion; a cover letter that provides any additional confidential information or concern for the editors.

In addition, if your paper has been accepted, in principle, for publication, the revised manuscript must comply with the formatting requirements as specified by the editor and detailed [above](#), with the length and figure limits appropriate to the content type, and with the following requirements.

## ORCID

As part of our efforts to improve transparency in authorship, we request that all corresponding authors of published papers provide their Open Researcher and Contributor Identifier (ORCID) ID, before resubmitting the final version of the manuscript. ORCID helps the scientific community achieve unambiguous attribution of all scholarly contributions.

Authors can link their ORCID to their account in the manuscript tracking system (MTS). From the MTS homepage, click **Modify my Springer Nature account** and then **ORCID Create/link an Open Researcher Contributor ID (ORCID)** in the Personal Profile tab. This will re-direct you to the ORCID website. If you already have an ORCID account, enter your ORCID email and password and click on **Authorize**. If you don't have one, you can create one at this stage. Linking ORCID and MTS accounts can be done at any time prior to acceptance.

- PostScript (.ps),
- Rich Text Format (.rtf),
- Systems Biology Markup Language (.sbml, .xml, .owl),
- TAR archive file (.tar),
- TIFF image (.tif),
- WordPerfect document (.wpd).

File sizes should be as small as possible, with a maximum size of 30 MB, so that they can be downloaded quickly. The combined total size of all files must not exceed 150 MB. The combined total size of all files must not exceed 150 MB. Video files should use a frame size no larger than 320 x 240 pixels.

All panels of a figure or table (for example, Fig. 1a, b and c) should be combined into one file; please do not send as separate files. Image files should be just large enough to view when the screen resolution is set to 640 x 480 pixels. Remember to include a brief title and legend (preferably incorporated into the image file to appear near the image) as part of every electronic figure submitted, and a title as part of every table.

Audio and video files should use a frame size no larger than 320 x 240 pixels. The file size of each should not exceed 30 MB.

For more information please visit [ORCID at Springer Nature](#). If you experience technical issues please contact the [Platform Support Helpdesk](#).

## Language

As the Nature Partner Journals are read by scientists from diverse backgrounds, many of whom are not native English speakers, it is essential that the findings are reported in an accessible language. Manuscripts can be subject to editing, in consultation with the authors, to achieve this goal. You are welcome to discuss proposed changes with the editors, but the Nature Partner Journal editors reserve the right to make the final decision about matters of style and the size of figures.

After acceptance, a copy editor may make changes so that the text and figures are readable and clear to those outside the field, and so that papers conform to our style.

## Preparing production quality figures

Please read the [digital images integrity and standards](#) policy. When possible, we prefer to use original digital figures to ensure the highest-quality reproduction in the journal. For optimal results, prepare figures at actual size for the journal. Figures that do not meet these standards will not reproduce well and publication may be delayed until we receive high-resolution images. We cannot offer to provide corrected reprints with higher image quality if only poor quality images were supplied at accept stage.

Authors are responsible for obtaining permission to publish any figures or illustrations that are protected by copyright, including figures published elsewhere and pictures taken by professional photographers. The journal cannot publish images downloaded from the internet without appropriate permission.

# ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BIOFILMS AND MICROBIOMES (NATURE PARTNERS JOURNAL)

Updated December 5<sup>th</sup>, 2018



When creating and submitting digital files, please follow the guidelines found [here](#).

## Chemical structures

Chemical structures should be produced using ChemDraw or a similar program. All chemical compounds must be assigned a bold, Arabic numeral in the order in which the compounds are presented in the manuscript text. Figures containing chemical structures should be submitted in a size appropriate for direct incorporation into the printed journal. Authors using ChemDraw should make use of our [journal template](#) or use the preferences below, submitting the final files at 100% as .cdx files. Creating molecules within or copying them into the template will ensure that most of our journal style points

are followed. For more information, please also review our [Chemical Style Guide](#).

Drawing settings: chain angle, 120° bond spacing, 18% of width; fixed length, 14.4 pt; bold width, 2.0 pt; line width, 0.6 pt; margin width 1.6 pt; hash spacing 2.5 pt.

Atom Label settings: font, Arial; size, 8 pt. "Show labels on Terminal Carbons" and "Hide Implicit Hydrogens" should be unchecked.

## Stereo images

Stereo diagrams should be presented for divergent 'wall-eyed' viewing, with the two panels separated by ~5.5 cm. In the final accepted version of the manuscript, the stereo images should be submitted at their final print size.

## Peer Review and Publication

This section explains the editorial processes at the Nature Partner Journals, which can be outlined in the following steps:

1. The author submits a manuscript and it receives a tracking number.
2. An editor is assigned to the manuscript.
3. The editorial team decides whether to send the manuscript out to review. If the decision is not to send the manuscript for review, the editor contacts the author with the decision.
4. The editor assigns potential reviewers to the manuscript and the author is notified.
5. Reviewers agree to review the manuscript.
6. Reviewers submit their reports to the editor.
7. The editorial team discusses the reports and the editor makes the final decision. This process may involve further consultation with the reviewers and editor-mediated communications between the reviewers.
8. The editor contacts the author with the decision.
9. If the decision is negative, the author can choose to transfer their manuscript to another journal. If the manuscript was peer reviewed the referee comments are also transferred. Please see our [Manuscript Transfer FAQ](#) for more information about this service.

## First editorial decision

When a new submission is received, it is assigned to an Editor in Chief, who reads the paper, and decides whether to assign it to an Associate Editor. The Associate Editor can then consult with other editors (including in-house Managing Editors), and decide whether it should be sent for peer review based on the editorial criteria of the journal of novelty and significance. The novelty of a submitted paper might be considered to be compromised if it has significant conceptual overlap with a published paper. Preprint archives do not compromise novelty.

If a paper was previously reviewed at a Nature journal, the authors can use an automated manuscript transfer service to transfer the referees' reports to a Nature Partner Journal via a link sent by the editor who handled the manuscript. The reviewer identities will not be transferred, and although the journal editors will take the previous reviews into account when making their

decision, the editors will likely choose to take advice from additional or alternative referees. Alternatively, authors may choose to request a fresh review, in which case they should not use the automated transfer link, and the editors will evaluate the paper without reference to the previous review process. However, this decision must be made at the time of initial submission and cannot be changed later.

If the authors ask the editors to consider the previous reviews, they should include a note explaining the relationship between the submitted manuscript and the previous submission and (assuming it has been revised in light of the referees' criticisms) giving a point-by-point response to the referees. In cases where the work was felt to be of high quality, papers can sometimes be accepted without further review, but if there were serious criticisms, the editors will consider them in making the decision. In the event of publication, the received date is the date of submission to the Nature Partner Journal.

When the editors have reached a first decision on the paper, they notify the corresponding author by email.

## Peer review

If the editor decides to send the paper to external peer reviewers, they will contact researchers with relevant expertise. Referee selection is critical to the review process, and we base our choice on many factors, including expertise, reputation, specific recommendations and our own previous experience of a referee's characteristics. For instance, we avoid using referees who are chronically slow, careless, too harsh or too lenient. Authors may suggest referees; these suggestions are often helpful, although they are not always followed. By policy, referees are not identified to the authors, except at the request of the referee.

Conceptually similar manuscripts are held to the same editorial standards as far as possible, and so they are often sent to the same referees. However, each of the co-submitted manuscripts must meet the criteria for publication without reference to the other paper. Thus if one paper is substantially less complete or convincing than the other, it may be rejected, even if the papers reach the same conclusion.

# ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BIOFILMS AND MICROBIOMES (NATURE PARTNERS JOURNAL)

Updated December 5<sup>th</sup>, 2018



## Decision after review and revision

When all the referee reports are received, the editors then make a decision based on the reviewers' advice, from among several possibilities:

- Accept, with or without editorial revisions
- Invite the authors to revise their manuscript to address specific concerns before a final decision is reached
- Decline publication, typically on grounds of specialist interest, lack of novelty, insufficient conceptual advance or major technical and/or interpretational problems

Editors consider not only how good the paper is now, but also how good it might become after revision. In cases where the referees have requested well-defined changes to the manuscript that do not appear to require extensive further experiments, editors may request a revised manuscript that addresses the referees' concerns. The revised version is normally sent back to some or all of the original referees for re-review. The decision letter will specify a deadline, and revisions that are returned within this period will retain their original submission date.

In cases where the referees' concerns are more wide-ranging, editors will normally decline publication of the manuscript.

An invited revision should be submitted via the revision link to the online submission system **provided in the decision letter, not as a new manuscript**. The revised manuscript should be accompanied by a cover letter that includes a point-by-point response to referees' comments and an explanation of how the manuscript has been changed.

## Acceptance and publication

If the authors have successfully addressed all the comments of the reviewers and the editors, the editors will deem the paper acceptable for publication in the Nature Partner Journal. They will send a request for final submission possibly requiring some text changes but usually no revisions to the data or conclusions. These letters are accompanied by detailed comments on the paper's format compiled by the Managing Editors. At this stage, authors may receive an edited manuscript from the editor indicating editorial concerns that must be addressed in the revision. A priority of the Nature Partner Journals is that all papers be accessible to non-specialists. After acceptance, a copy editor may make further changes so that the text is readable and clear to

those outside the field, and so that papers conform to our style.

For the final revision, authors should use the revision link to the online submission system provided in the decision letter to upload a final version of the text with all the requested format changes. Electronic files of the final figures, at high resolution, should be submitted at this time.

When all remaining editorial issues are resolved, the paper is formally accepted. Contributors are sent proofs and are welcome to discuss proposed changes with the editors, but the Nature Partner Journals team reserves the right to make the final decision about matters of style and the size of figures.

## Appeals

Even in cases where editors did not invite resubmission, some authors ask the editors to reconsider a rejection decision. These are considered appeals, which, by policy, must take second place to the normal workload.

Decisions are reversed on appeal only if the editors are convinced that the original decision was a factual mistake. Further consideration may be merited if a referee made substantial errors of fact or showed evidence of bias, but only if a reversal of that referee's opinion would have changed the original decision. Similarly, disputes on factual issues need not be resolved unless they were critical to the outcome.

If an appeal merits further consideration, the editors may send the authors' response or the revised paper to one or more referees, or they may ask one referee to comment on the concerns raised by another referee. On occasion, particularly if the editors feel that additional technical expertise is needed to make a decision, they may obtain advice from additional referees.

## Transfers

If the editors of a Nature Partner Journal decline publication of a manuscript, before or after peer review, the authors can easily resubmit it to a different journal within the Nature Research family, in most cases without the need to reformat or upload the files, by following the link provided in the editor's decision email.

More information about the manuscript transfer service can be found [here](#).

Follow this link for [a list of all Nature Research journals and subject areas](#)

Follow this link for [a general explanation of the relationships between Nature Research titles](#)

## Post-Acceptance

Once a manuscript is accepted, the corresponding author must complete a Creative Commons licence and Article Processing Charge Payment form online on behalf of all authors. Failure to promptly return this information will result in delay of publication.

## Publication

Publishing Open Access will mean the paper is freely accessible online immediately upon publication. By paying this charge authors are permitted to post the final, published PDF of their article on a website, institutional

repository or other free public server, immediately on publication.

Open access articles are published under a [CC BY](#) licence (Creative Commons Attribution 4.0 International Licence). The CC BY licence is preferred by many research funding bodies. It allows for maximum dissemination and re-use of open access materials: users are free to share (copy, distribute and transmit) and remix (adapt) the contribution including for commercial purposes, providing they attribute

## ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BIOFILMS AND MICROBIOMES (NATURE PARTNERS JOURNAL)

Updated December 5<sup>th</sup>, 2018



the contribution in the manner specified by the author or licensor.

Under Creative Commons licences, authors retain copyright in their work. Authors should note that some funders require papers to be published under a specific licence and so should check the funder mandate to ensure compliance.

### Article Processing Charge Waiver policy

The Nature Partner Journals offer [APC waivers](#) for papers whose corresponding authors are based in the world's lowest income countries as defined by the World Bank. Discretionary APC waivers for authors will be considered on a case-by-case basis, and may be granted in cases of financial need. All applications for discretionary APC waivers should be made prior to, or at the point of, manuscript submission. To request a waiver please contact us at [apcwaivers@springernature.com](mailto:apcwaivers@springernature.com). Full details of our APC waiver and discount policies can be found [here](#).

All decisions to publish are based entirely on editorial criteria and the editors and reviewers will not have access to the information on the author's ability to pay the Article Processing Charge.

### Open access funding

Visit Nature Research's [open access funding](#) page for information about research funders and institutions that provide funding for open access.

Nature Research also offers an APC support service to make it easier for Nature Research authors to discover and apply for open access funding. For advice on what funding is available to you and help in approaching funders and institutions, please contact us at [openaccess@nature.com](mailto:openaccess@nature.com).

For more information about Nature Research's open access publishing options and policies, please see our [open access homepage](#).