



Universidade de Brasília
Faculdade de Ceilândia

**Avaliação da Síndrome Respiratória Aguda Grave por
SARS-CoV-2, Influenza e Vírus Sincicial Respiratório
Humano, no Distrito Federal, 2018 a 2022.**

Isabela de Andrade Cardoso

Brasília
2023



**Universidade de Brasília
Faculdade de Ceilândia**

**Avaliação da Síndrome Respiratória Aguda Grave por
SARS-CoV-2, Influenza e Vírus Sincicial Respiratório
Humano, no Distrito Federal, 2018 a 2022.**

Isabela de Andrade Cardoso

**Trabalho de Conclusão de Curso em
Farmácia apresentado à Faculdade de
Ceilândia da Universidade de Brasília
para obtenção do título de Bacharel em
Farmácia.**

**Orientador: Professor Dr. Walter Massa
Ramalho**

**Brasília
2023**



DATA DA DEFESA

15 de fevereiro de 2023

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Walter Massa Ramalho
Saúde Coletiva – Universidade de Brasília, Campus Ceilândia.
Presidente da banca

Professor Dr. Eduardo Antônio Ferreira
Farmácia - Universidade de Brasília, Campus Ceilândia.
Examinador

Ma. Daniely Martins da Silva
Farmacêutica – Hospital da Criança.
Examinador

Brasília
2023



DEDICATÓRIA

Aos meus avós, Sádyá Araújo dos Santos Cardoso e Léo dos Santos Cardoso, que nunca mediram esforços para que eu chegasse até aqui, com muito carinho e apoio compartilharam cada conquista e estiveram comigo em todos os momentos dessa graduação.



AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por me permitir que chegasse até aqui. Agradeço aos meus pais Liliana Vieira de Andrade, Luís Cláudio dos Santos Cardoso e Efigênia Michelle Ferreira de Matos, por todo amor, cuidado, carinho, preocupação, esforços, suporte e apoio em toda a minha vida, por estarem junto comigo nessa conquista, essa graduação também pertence a eles.

Aos meus irmãos Mateus, José, João Gabriel e Esther, por me proporcionarem tantos momentos acolhedores, pelo apoio e incentivo, essa conquista é por vocês.

Aos meus primos Déborah Laplagne, Davi Cardoso, Diogo Cardoso e Douglas Cardoso, por caminharem comigo nessa jornada e em tantas outras, por estarem comigo nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos Alexandre Cesar, Luísa Marianne, Maria Elisa, Alice Cardoso e Juliana Almeida, por me acompanharem por todos esses anos, por apoiarem cada momento de esforço, por me acolherem, e por sempre estarem comigo.

Agradeço especialmente a Camila Giacomini, Júlia Chaves, Felipe Leite e Larissa Leite, que estiveram comigo ativamente nessa fase final do curso, por todo amor sincero e cuidado, pela ajuda para a conclusão deste trabalho e por todos os momentos de pesquisa, estudos, conversas, que foram imprescindíveis para que eu chegasse até aqui.

Ao meu orientador, Walter Ramalho, por me incentivar a crescer dentro da universidade, que me acompanha desde o segundo semestre da graduação, pelo primeiro convite à pesquisa, me permitindo abrir caminhos dentro e fora da universidade, proporcionando muitos aprendizados que formaram a profissional que aqui está formando.



LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1. Casos de SRAG pelo vírus Influenza por Semana Epidemiológica no Distrito Federal, 2018 a 2022.	27
Gráfico 2. Casos de SRAG pelo Vírus Sincicial Respiratório Humano por Semana Epidemiológica no Distrito Federal, 2018 a 2022.	28
Gráfico 3. Casos de SRAG pelo vírus SARS-CoV-2 por Semana Epidemiológica no Distrito Federal, 2020 a 2022.	28
Gráfico 4. Casos de SRAG por influenza, HRSV e SARS-CoV-2 por Semana Epidemiológica no Distrito Federal, 2018 a 2022.	29
Tabela 1. Desempenho dos testes RT-PCR multiplex utilizados pela RNLSP. ... Erro! Indicador não definido.	



LISTA DE SIGLAS

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CoV	Coronavírus
FLU	Influenza
FLUA	Influenza A
FLUB	Influenza B
GISRS	Sistema Global de Vigilância e Resposta à Influenza
HRSV	Vírus Sincicial Respiratório Humano
LACEN	Laboratórios Estaduais Centrais de Saúde Pública
MERS-COV	Middle East Respiratory Coronavirus
NICs	Centro Nacionais de Influenza
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
RNLSP	Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública
RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction
SARS-coV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
UTI	Unidade de Terapia Intensiva



SUMÁRIO

SUMÁRIO	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	11
MARCO TEÓRICO	12
JUSTIFICATIVA	23
OBJETIVOS	24
METODOLOGIA	24
RESULTADOS	26
DISCUSSÃO	31
CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36



RESUMO

As doenças infecciosas virais se enquadram entre as maiores cargas de doenças em todo o mundo, sendo uma grande ameaça à saúde pública. As infecções respiratórias causadas por infecção são uma das principais causas de morbimortalidade em todo o mundo e podem acometer pacientes de todas as idades. Dentre os microrganismos responsáveis pelas infecções respiratórias, três vírus desempenham papel importante no aparecimento de epidemias: o vírus da influenza, o vírus sincicial respiratório e o SARS-CoV-2. O presente estudo tem como propósito descrever a tendência de casos por síndrome respiratória aguda grave por SARS-CoV-2, influenza e vírus sincicial respiratório, nos períodos de 2018 a 2022. Foram analisados os casos notificados de SRAG com infecção confirmada para SARS-CoV-2, Influenza ou HRSV, no período de 1º de janeiro de 2018 a 31 de dezembro de 2022 no Distrito Federal. Ainda que o SARS-CoV-2 continue sendo o maior responsável por casos graves de síndrome respiratória aguda desde março de 2020, a cocirculação de outros vírus respiratórios é um fator importante a ser considerado no contexto das doenças respiratórias. Considerando o novo cenário de doenças respiratórias, a testagem laboratorial deve ser feita de maneira conjunta com o sistema de vigilância, sendo capaz de identificar novas transmissões e o impacto da infecção viral na morbidade e mortalidade populacional. Para isso, é necessário realizar uma cobertura laboratorial abrangente, que represente o máximo possível a população observada. Tem-se os testes moleculares destinados ao diagnóstico simultâneo de mais de um vírus respiratório são ferramentas essenciais para o cenário de cocirculação no Distrito Federal.

Palavras-chave: Influenza, Vírus Sincicial Respiratório Humano, Sars-CoV-2, Síndrome Respiratória Aguda Grave, Tendência.



ABSTRACT

Viral infectious diseases are among the greatest burdens of disease and pose a major threat to public health. Respiratory diseases caused by infection are one of the main causes of morbidity and mortality worldwide and can affect patients of all ages. Among the microorganisms responsible for respiratory infections, three viruses play an important role in the emergence of epidemics: the influenza virus, the respiratory syncytial virus and SARS-CoV-2. The present study aims to describe the tendency in cases of severe acute respiratory syndrome due to SARS-CoV-2, influenza and respiratory syncytial virus, from 2018 to 2022. -2, Influenza or HRSV, for the period from January 1, 2018 until December 31, 2022 for the Distrito Federal. Although SARS-CoV-2 remains the main cause of severe cases of acute respiratory syndrome since March 2020, the co-circulation of other respiratory viruses is an important factor to be considered in the context of respiratory diseases. Considering the new scenario of respiratory diseases, laboratory testing must be done in conjunction with the surveillance system, being able to identify new transmissions and the impact of viral infection on population morbidity and mortality. For this, it is necessary to carry out a comprehensive laboratory coverage, which represents the observed population as much as possible. Molecular tests for the simultaneous diagnosis of more than one controlled virus are essential tools for the co-circulation scenario in the Federal District.

Key-words: Influenza, Human Respiratory Syncytial Virus, Sars-CoV-2, Severe Acute Respiratory Syndrome, Tendency.



INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças infecciosas virais se enquadram entre as maiores cargas de doenças em todo o mundo, sendo uma grande ameaça à saúde pública. Esses vírus são conhecidos por causar doenças graves em indivíduos que apresentam algum tipo de comorbidade, causando um grande número de óbitos. No cenário da cocirculação de vírus respiratórios, revela-se a necessidade de identificação rápida e precisa de agentes virais para o controle de surtos e conhecimento do perfil dos vírus mais circulantes.

As infecções respiratórias causadas por infecção são uma das principais causas de morbimortalidade em todo o mundo e podem acometer pacientes de todas as idades, contribuindo para cerca de 6% a 21% das mortes por doenças respiratórias (COUCEIRO; MENDES; 2021). Em 2019, no Brasil, a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) foi responsável por 1.120 óbitos, e teve 5.800 casos registrados pela Secretaria de Saúde (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2019).

Dentre os microrganismos responsáveis pelas infecções respiratórias, três vírus desempenham papel importante no aparecimento de epidemias: o vírus da influenza, comumente descrito em pacientes jovens e adultos; o vírus sincicial respiratório humano, identificado majoritariamente em crianças, e o coronavírus 2 associado a síndrome respiratória aguda grave, mais prevalente em grupos de pacientes acometidos por doenças crônicas, imunocomprometidos e idosos (COUCEIRO; MENDES, 2021).

Com o aparecimento da covid-19, os casos de SRAG passaram a ser majoritariamente causados pelo vírus SARS-CoV-2. Atualmente, a covid-19 soma mais de 600 milhões de casos, com mais de 6 milhões de óbitos por todo o mundo. O atual contexto de cocirculação do SARS-CoV-2 com outros vírus respiratórios de relevância, como o vírus sincicial respiratório e o vírus influenza, pode apresentar uma grande ameaça à saúde pública, demandando eficácia na detecção e diferenciação desses vírus (STOWE, 2020).

Atualmente, a OMS preconiza a Vigilância Epidemiológica e Laboratorial de SRAG como método para identificar e monitorar os microrganismos causadores da síndrome, podendo assim conhecer seu perfil, cursar a história natural da doença,



prever medidas de controle e prevenção e adequar o manejo clínico feito pelos profissionais de saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

O diagnóstico laboratorial sensível e específico é uma ferramenta imprescindível para o diagnóstico precoce e escolha da terapia adequada, além de influenciar na taxa de prescrição inadequada de medicamentos, promovendo o uso racional (LIMA, 2022). Os testes de diagnóstico auxiliam no rastreamento de casos e na vigilância epidemiológica dos vírus respiratórios, podendo através da notificação correta de casos confirmados conhecer o perfil de transmissão do patógeno, podendo-se elaborar medidas de controle e prevenção, ações estratégicas e até estimar possíveis epidemias (MINISTERIO DA SAUDE, 2021).

O presente estudo tem como propósito descrever a tendência de casos por síndrome respiratória aguda grave por SARS-CoV-2, influenza e vírus sincicial respiratório, nos períodos de 2018 a 2022.

MARCO TEÓRICO

Síndrome Respiratória Aguda Grave

A Síndrome Respiratória Aguda Grave é descrita pela Organização Mundial da Saúde como quadro grave de síndrome gripal em pacientes que necessitam de hospitalização por apresentarem complicações, apresentando tosse, dor de garganta e outros sintomas gripais, com saturação de oxigênio abaixo de 95%.

As pandemias de gripe ocorrem a cada 20 e 30 anos e geralmente estão associadas a sintomas mais graves que afetam a população jovem. Essas pandemias são de grande preocupação dos setores de saúde pela capacidade de variação dos vírus. A primeira pandemia descrita ocorreu em 1889, pela linhagem H3N8 do vírus influenza A, porém esta não foi amplamente documentada. Já a pandemia de Gripe Espanhola (1918) apresenta estudos bem estabelecidos e ocorreu pela disseminação do vírus H1N1, infectando cerca de um terço da população mundial, sendo responsável por mais de 50 milhões de mortes (PETERANDERL et al, 2016).

Em 2009 uma nova variante do vírus H1N1 foi responsável por mais uma pandemia, provocando mais de 200.000 mortes associadas à gripe e ao desenvolvimento e agravamento de doenças respiratórias, e 80.000 mortes por



insuficiência cardiovascular, sendo essas mortes majoritariamente, cerca de 80%, na população jovem com menos de 65 anos (CODEÇO et al., 2012).

Durante a pandemia de H1N1, a OMS, estipulou que os óbitos e os casos confirmados em laboratório de Síndrome Respiratória Aguda Grave fossem notificados aos órgãos de saúde. Após a pandemia de H1N1, a OMS realiza a vigilância de SRAG anualmente através de sentinelas, cujo funcionamento se dá em unidades de saúde selecionadas de forma estratégica pelos órgãos de saúde de cada país, com o intuito de identificar os vírus sazonais circulantes, analisar a carga global da doença e identificar as cepas dos vírus para a confecção de vacinas compatíveis. Através das sentinelas, as entidades responsáveis conseguem obter dados sobre as características epidemiológicas e moleculares dos vírus respiratórios circulantes no mundo, para que assim sejam elaboradas políticas de ação, prevenção e controle da doença.

No Brasil, a vigilância da SRAG foi instaurada em 2009 como medida de controle dos vírus circulantes na população em decorrência da então pandemia de H1N1, sendo desde então uma doença de notificação compulsória. O objetivo primário da vigilância de casos de SRAG não é identificar cada caso, mas sim conhecer o padrão da transmissão dos patógenos, conhecer a carga da doença e as possíveis mudanças que os vírus e a doença possam apresentar (MINISTERIO DA SAUDE, 2021).

A vigilância laboratorial da SRAG se deu pela formação dos Centro Nacionais de Influenza (NICs), que hoje fazem parte da Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (RNLSP) para enfrentamento da covid-19, juntamente com os 27 Laboratórios Estaduais Centrais de Saúde Pública (LACEN), sendo um laboratório de cada estado brasileiro (MINISTERIO DA SAUDE, 2021).

Antes da pandemia de covid-19, a SRAG era causada majoritariamente por infecções pelo vírus influenza e pelo vírus sincicial respiratório. Dentre os casos de SRAG notificados no Brasil em 2019, até a semana epidemiológica 49, cerca de 17% foram causados por infecção por vírus influenza (FLU), dos quais mais de 59% por influenza A H1N1pdm09. O vírus sincicial respiratório humano (HRSV) foi responsável pela infecção de 69,9% dos casos notificados que tiveram o diagnóstico laboratorial divulgado em 2019, sendo o principal vírus identificado nos casos de SRAG deste ano (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2019).



Desde março de 2020, o SARS-CoV-2 é o maior responsável por desencadear casos de SRAG no mundo, porém outros vírus também desempenham papel importante na carga global da doença. O cenário pandêmico mundial enfatiza a necessidade da identificação apropriada para obter-se dados precisos acerca dos vírus respiratórios circulantes, a fim de manejar adequadamente os casos para a prevenção e controle da SRAG (STOWE, 2020).

Influenza

O vírus influenza pertencente à família *Orthomyxoviridae*, é composto por genomas de RNA segmentado de fita simples. Os gêneros alfa, beta e gamainfluenzavírus são os únicos que comprovadamente infectam humanos. A gripe sazonal é causada por vírus influenza tipo A (FLUA) e tipo B (FLUB).

Historicamente duas grandes pandemias foram causadas pela influenza A. A de 'Gripe Espanhola' (H1N1), em 1918, teve cerca de 50 milhões de óbitos e a de 'Gripe Suína' (H1N1), em 2009, causou mais de 200 mil mortes (PETROVA et al., 2018).

Os vírus do tipo A circulante em humanos são dos subgrupos H1N1 e H2N3. Essas cepas também podem ser encontradas principalmente em aves e mamíferos. Atualmente, são conhecidos 18 subtipos de vírus que apresentam glicoproteínas hemaglutinina na sua morfologia e 11 subtipos que apresentam neuraminidase (NETO et al., 2003).

A evolução viral provoca o surgimento de novas variantes das cepas dos vírus, eventos classificados como deriva antigênica e troca gênica. Essas mutações permitem que os vírus sobrevivam à resposta humoral, o que permite a reinfeção de indivíduos que já tiveram contato com o vírus. O princípio da deriva antigênica é utilizado na produção das vacinas anuais para a gripe, onde as cepas dos vírus circulantes são analisadas e permitem a reformulação das vacinas anualmente (PETROVA et al., 2018).

A transmissão dos vírus da gripe sazonal se dá em curtas distâncias, de pessoa para pessoa, por meio de gotículas e aerossóis liberados por pessoas já infectadas. Após a inoculação do vírus, dentro de 2 a 3 dias podem começar a aparecer sintomas, como febre acima de 38 °C, tosse com catarro e fraqueza, espirros, coriza, congestão nasal, dor de garganta e faringite, podendo durar por até duas semanas (COUCEIRO; MENDES; 2021).



O início da infecção é caracterizado por maior inflamação do trato respiratório superior, devido maior concentração do vírus nessa área. A resposta imune sistêmica por IgG e IgM iniciam no 5º dia de infecção, porém a produção de interferons é iniciada no 3º dia da infecção podendo estar presente até o 8º dia. O alto recrutamento das células de defesa durante o período de infecção pode contribuir para a lesão dos órgãos respiratórios e agravamento do quadro respiratório. Podem ser desenvolvidas pneumonias bacterianas, bronquiolite, bronquite, crupe viral, rinossinusite, que potencialmente evoluem para SRAG (COUCEIRO; MENDES; 2021). A hospitalização pode ser consequência da exacerbação de doenças crônicas, como doença coronariana, diabetes, obesidade e doenças respiratórias, sendo mais comum em grávidas, bebês, crianças e idosos (PETERANDERL et al., 2016).

No protocolo de tratamento de Influenza publicado em 2017, a recomendação para casos graves de influenza inclui a internação hospitalar, com a reavaliação clínica verificação da necessidade de internação em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), uso de oseltamivir e coleta de amostras da secreção respiratória do paciente para identificação do patógeno.

O diagnóstico clínico para gripe apresenta baixa precisão devido a sintomas inespecíficos da doença, necessitando de confirmação laboratorial. Os diagnósticos laboratoriais são a partir de testes rápidos, por imunofluorescência direta e indireta e por RT-PCR. As amostras devem ser coletadas na fase aguda, nos casos de amostras de swab de garganta, nasal ou saliva. Para os exames sorológicos, as amostras devem ser coletadas no período agudo e convalescente.

No Brasil, a caracterização antigênica é feita por laboratórios especializados que participam da Vigilância de Influenza feita pelo Ministério da Saúde em parceria com a OMS. Estão inclusos os Laboratórios Centrais de Saúde Pública, os Laboratórios de Referência Regionais e Nacionais e outros laboratórios especializados. Esses laboratórios identificam o agente etiológico, tipagem e subtipagem dos vírus de influenza circulantes para o processamento das amostras e seguem um fluxo estabelecido pelo Ministério da Saúde. São realizadas culturas virais para caracterização antigênica que auxiliam na elaboração das vacinas contra a gripe, através do processamento das amostras e posterior envio para análises complementares (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).



Considerando as informações produzidas nos laboratórios de referência nacional, a produção das vacinas anuais se dá em conformidade às cepas de vírus circulantes determinadas a cada ano. De acordo com a OMS, para a produção das vacinas, cepas de influenza são coletadas por todo o mundo para classificação e categorização de acordo com tipo antigênico, hospedeiro e origem, localização geográfica, número laboratorial da cepa e ano de isolamento. Portanto, apesar do controle da doença ser dificultado pelo alto índice de mutação do vírus influenza, a estratégia é utilizada para garantir a imunização nacional, diminuir a carga da doença, diminuir o rearranjo viral, e conseqüentemente, a diminuição do número de casos graves de influenza (UYEKI et al., 2022).

A vacina para a gripe é composta por duas cepas circulantes do vírus influenza A, H1N1 e H3N2, e de uma ou duas linhagens do vírus influenza B, Yamagata e Victoria. A vacina produzida no Brasil, pelo Instituto Butantan, é desenvolvida em ovos embrionários de galinha e passa por quatro processos principais: purificação, fragmentação viral, inativação e esterilização. Pacientes que tenham alergia a algum componente da vacina não devem ser vacinados. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Além das estratégias de vacinação, a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) determinou o Plano Brasileiro para Enfrentamento de uma Pandemia de Influenza que inclui ações de vigilância epidemiológica, o incentivo ao cumprimento das medidas preventivas individuais, premissas para o diagnóstico laboratorial, o uso correto de medicamentos antivirais e o controle de infecções hospitalares, com ênfase no cuidado de grupos prioritários, objetivando evitar que uma pandemia se firme no país (COUCEIRO; MENDES; 2021).

Vírus Sincicial Respiratório

O vírus respiratório sincicial humano, é classificado na família *Pneumoviridae*, gênero *Orthopneumovirus*, na espécie *Human orthopneumovirus*. Os grupos principais de HRSV, A e B, são conhecidos por cocircular em períodos epidêmicos, porém o grupo A apresenta maior taxa de infecção e transmissão que o grupo B. Cerca de 34 genótipos já foram descritos para o HRSV (11 do grupo A e 22 do grupo B), apresentando alta taxa de variação, e a circulação dos genótipos varia de ano para ano e pode mudar em diferentes localizações (MENDES, 2021).



O vírus respiratório sincicial humano é transmitido por via respiratória, e semelhantemente à influenza, a transmissão varia a depender de fatores extrínsecos e intrínsecos ao hospedeiro. O clima, a temperatura e a umidade influenciam na taxa de transmissão do vírus, assim como ambientes hospitalares e creches apresentam maior risco de contaminação. Quanto aos fatores intrínsecos, indivíduos com o sistema imune imaturo ou suprimido, como crianças e idosos, apresentam maior risco de desenvolverem casos graves da doença (MENDES, 2021).

A transmissão viral se dá de pessoa para pessoa, por secreções, aerossóis e superfícies contaminadas. O vírus infecta primeiramente o sistema respiratório superior com posterior disseminação para o sistema respiratório inferior, alcançando bronquíolos e alvéolos. A progressão da doença hipersensibiliza o sistema respiratório induzindo a alta produção de muco, edemas e destruição do epitélio, que pode ser acumulado dentro do pulmão e eventualmente produzir infecções como pneumonias e bronquiolites (NASCIMENTO, 2006). Um estudo descreveu uma forte correlação epidemiológica entre casos de HRSV e o desenvolvimento de asma, devido à resposta imunológica exacerbada do organismo de indivíduos que desenvolvem a doença grave, apresentando alta produção de IgE e outras células de defesa (MENDES, 2021).

O diagnóstico para HRSV é majoritariamente clínico, e em alguns casos, o diagnóstico laboratorial é feito para aumentar a confiabilidade do diagnóstico clínico. O teste rápido subsidia a tomada de decisão para o tratamento adequado do paciente, apesar de ser pouco frequente. Na realidade ambulatorial é comum que antibióticos sejam prescritos de forma equivocada pela confusão dos sintomas, evidenciando a importância da testagem laboratorial (NASCIMENTO, 2006).

Para a prevenção da doença grave do trato respiratório causada pelo HRSV em alguns casos o medicamento palivizumabe (Synagis®) é utilizado. O palivizumabe realiza a imunoprofilaxia passiva, utilizando anticorpo monoclonal para neutralizar e inibir a fusão do vírus nas células, inibindo a replicação viral. A eficácia e segurança do produto foi testada pela empresa detentora do registro em crianças prematuras com cardiopatia congênita e portadoras de displasia broncopulmonar (ANVISA, 2022).

Quando apresentado um caso grave de infecção por HRSV, o manejo clínico adequado em crianças envolve terapia intensa de suporte, como remoção mecânica de secreções, posicionamento correto da criança e assistência respiratória.



Atualmente, para o tratamento de HRSV somente um antiviral é aprovado, a ribavirina. A ribavirina foi aprovada em 1986 e é utilizada somente em casos graves, pois apresenta difícil administração e baixa eficácia comprovada.

SARS-CoV-2

Em 1965 foi descrito o primeiro coronavírus (CoV) capaz de infectar humanos. Suas características circulares com espículas na superfície lembrando uma coroa designaram seu nome. Sendo o segundo maior causador de resfriados em seres humanos o CoV foi responsável por um surto ocorrido em 2002 de SRAG que alcançou cinco continentes, causando aproximadamente 900 óbitos em um ano (OMS, 2022).

Decorrente do alto número de casos causados por esse vírus, foram iniciadas pesquisas, possibilitando a identificação de novas espécies de CoV humano. Dentre os vírus, a MERS-COV (middle east respiratory coronavirus) foi identificada a partir de um caso de SRAG na Arábia Saudita por volta de dez anos depois do surto do primeiro coronavírus humano. O SARS-CoV-2 foi identificado a partir de um surto de pneumonia em dezembro de 2019, na China, sendo a doença posteriormente denominada como Covid-19 (COUCEIRO; MENDES; 2021).

A OMS declarou em janeiro de 2020 a covid-19 como emergência de saúde pública de importância nacional. Em março de 2020 o vírus estava sendo transmitido por todo território nacional, com alta taxa de transmissão e crescente número de mortes.

Até janeiro de 2023, a covid-19 causou quase 7 milhões de mortes em todo o mundo e o Brasil ocupa o segundo lugar com mais mortes, atrás apenas dos Estados Unidos. No país, foram mais de 36 milhões de casos e atualmente mais de 600.000 mortes registradas (MINISTERIO DA SAUDE, 2022).

Os coronavírus pertencem à família *Coronaviridae*, à subfamília *Orthocoronavirinae* e ao gênero *Betacoronavirus*. São classificados como os maiores vírus de RNA, apresentando três tipos proteínas em sua membrana de envelope viral, e seu o vírion consiste em um nucleocapsídeo helicoidal. (COUCEIRO; MENDES; 2021).

A infecção causada pelo SARS-CoV-2 atinge principalmente as vias respiratórias, porém o vírus também pode ser detectado em órgãos vitais como rins,



fígado e intestino. No período de infecção, as principais respostas humorais se apresentam na elevação dos níveis de macrófagos no pulmão, sendo essa atividade responsável pela debilitação pulmonar. No soro do indivíduo infectado, pode-se detectar alto nível de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas que podem levar à inflamação em outros órgãos vitais (COUCEIRO; MENDES; 2021).

A transmissão da covid-19 ocorre também de pessoa para pessoa, por meio de aerossóis expelidos decorrente da alta carga viral desenvolvida na via respiratória de pacientes infectados. Há a hipótese sobre indivíduos assintomáticos serem responsáveis pela maioria das infecções causadas pelo SARS-CoV-2. Assim como conhecido para outros vírus respiratórios, a transmissão viral é maior em ambientes fechados (COUCEIRO; MENDES; 2021).

Os sintomas decorrentes da Covid-19 são inespecíficos e majoritariamente leves, desaparecendo em até 20 dias após a infecção. Pacientes infectados podem sentir mialgia, febre, tosse seca, dispneia e alterações gastrointestinais. Até dezembro de 2022, foi identificada associação da infecção a danos cardíacos e alguns sintomas neurológicos, como perda de olfato, paladar e encefalites. Indivíduos infectados podem ser assintomáticos, ou apresentarem sintomas leves e graves. Casos complicados de covid-19 foram associados ao aumento da gravidade e ao desenvolvimento de SRAG, e conseqüentemente, ao óbito (MINISTERIO DA SAUDE, 2020).

Quanto à população mais afetada pelo vírus, até dezembro de 2021 foi observado que pacientes acima de 60 anos de idade, com comorbidades como asma, bronquite, diabetes e doenças cardiovasculares têm mais chance de evoluírem a óbito (COUCEIRO; MENDES; 2021).

Quanto ao diagnóstico, a partir da identificação dos sintomas clínicos, que se apresentam semelhantes a outras síndromes gripais, se faz necessário o auxílio de exames laboratoriais para a confirmação dos casos. Atualmente, para guiar o diagnóstico laboratorial, foi elaborado o Guia de Vigilância Epidemiológica que adequa os exames para identificação dos vírus respiratórios à realidade da covid-19, para isso são realizados os métodos de diagnóstico RT-PCR, os ensaios sorológicos e testes rápidos para detectar IgM e IgG em casos de não disponibilidade de RT-PCR (MINISTERIO DA SAUDE, 2021).



Até janeiro de 2023 seis medicamentos foram aprovados para o tratamento da covid-19 o rendesivir, o sotrovimabe, o baricitinibe, o Evusheld® (cilgavimabe + tixagevimabe), o Paxlovid® (nirmatrelvir + ritonavir) e o molnupiravir, sendo que a maioria obteve aprovação como uso emergencial, tendo validade de dois anos. Em 2023, uma nova indicação foi aprovada para a dexametasona para o tratamento de pacientes acometidos com covid-19 em situação grave ou crítica (ANVISA, 2021).

Em casos graves de UTI é comum a utilização de corticosteroides e antitrombóticos para tratar os sintomas inflamatórios e pró-trombóticos decorrentes da infecção em pacientes que apresentam o estado grave da doença. As ações de combate e controle de casos Ministério da Saúde consiste no fortalecimento da prevenção dos casos através das vacinas, das medidas preventivas (distanciamento social, álcool gel, uso de máscaras, entre outros) e da Vigilância Epidemiológica e Biomolecular.

Um estudo realizado pelo Instituto Butantan em março de 2022 mostrou que os não vacinados representavam 75% das mortes por covid-19, mostrando que a vacinação foi protetiva para todas as faixas etárias contra hospitalizações e mortes.

Até janeiro de 2023, cinco vacinas foram aprovadas para a covid-19, a Comirnaty (Pfizer/Wyeth), a Comirnaty bivalente (Pfizer), a Coronavac (butantan), a Janssen Vaccine (Janssen-Cilag) e a Oxford/Covishield (Fiocruz e Astrazeneca) (ANVISA, 2022).

Testes laboratoriais de diagnóstico

O Ministério da Saúde, após a pandemia de covid-19, preconiza que para casos de SRAG, independente do dia que os sintomas iniciaram, deve ser realizada a coleta de amostras em todos os casos hospitalizados e óbitos, incluindo os pacientes que se encontram na UTI. O diagnóstico laboratorial é uma ferramenta importante para a confirmação dos casos, além de servir de auxílio para a tomada de decisão no âmbito da vigilância epidemiológica e genômica dos vírus, como também para a elaboração de estratégias de atenção à saúde (MINISTERIO DA SAUDE, 2021).

Mesmo antes da pandemia, o processamento das amostras de pacientes com suspeita de infecção viral já era feito pelo LACEN, eram separadas em três alíquotas distintas, uma para uso do próprio LACEN responsável pelo exame para o processamento da amostra na mesma semana de recebimento, com prazo de



liberação do resultado de até sete dias. As outras duas alíquotas poderiam ser enviadas ao laboratório de referência, caso se enquadrassem nos casos previstos no Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza no Brasil, para diagnóstico molecular de identificação dos vírus respiratórios e para a tipagem e subtipagem do vírus influenza e posterior envio ao Centro Colaborador da OMS no CDC para análises antigênicas avançadas, para que assim pudessem ser preparadas as vacinas anuais de influenza (MINISTERIO DA SAUDE, 2017).

Os Centros Nacionais de Influenza realizam a detecção de influenza desde a sua implementação como parte do Sistema Global de Vigilância e Resposta à Influenza (GISRS). Com o surgimento da covid-19, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) emitiu um documento que determina orientações para a vigilância integrada de influenza e covid-19, de modo que, a vigilância para gripe continuasse com o preconizado pelo GISRS, porém com a implementação de ensaios multiplex por RT-PCR para todos os casos de SRAG, priorizando a confirmação de casos de SARS-CoV-2 (OPAS, 2021).

A rede nacional de laboratórios para vigilância de influenza e outros vírus respiratórios realizou uma resposta laboratorial à pandemia primeiramente com a descentralização da metodologia RT-PCR para SARS-CoV-2 que anteriormente era feita por apenas três NICs. A partir de então, todos os LACEN foram capacitados e passaram a realizar o exame, sendo essa parte fundamental para a vigilância de SRAG (OPAS, 2021). Atualmente, a Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública, responsável pela testagem molecular, é composta pelo LACEN, por 3 laboratórios de referência sendo Fiocruz (RJ), um do Adolfo Lutz (SP) e Instituto Evandro Chagas, que compõem os NICs.

Os testes moleculares exerceram papel importante no curso da pandemia de covid-19. Esses testes apresentam maior especificidade e sensibilidade, porém apresentam maior custo em relação aos testes não moleculares. A identificação dos vírus respiratórios por RT-PCR é reconhecida como padrão ouro pelo Ministério da Saúde e no cenário atual pandêmico, deve ser coletada em todos os casos de SRAG, entre o 1º e o 14º dia do início dos sintomas, com amostras de secreção nasofaríngea dos pacientes.

Quanto aos testes rápidos por imunocromatografia para pesquisa de antígeno viral, são testes que detectam a presença de antígeno, e sua utilização é mais indicada



na fase aguda da doença. Como vantagem esses testes apresentam fácil manuseio e disponibilidade de serem realizados no local de atendimento ao paciente, de forma rápida, para auxílio no diagnóstico da doença (MINISTERIO DA SAUDE, 2020).

Quanto aos testes imunológicos, estes são feitos a partir de amostras sorológicas, permitindo a identificação de anticorpos produzidos pelo indivíduo, tanto na fase aguda, como na fase convalescente da doença. A indicação para a realização desse tipo de teste é para a execução a partir do 8º desde o início dos sintomas. Estão inclusos nessa categoria os testes rápidos de IgM e IgG feitos por imunocromatografia, os ensaios imunoenzimáticos, de quimioluminescência e de imunofluorescência, geralmente menos utilizados (MINISTERIO DA SAUDE, 2017).

Tendo em vista a falta de padronização dos kits de testes rápidos (TRs), os diferentes reagentes e métodos utilizados, a falta de estudos que avaliam a acurácia desses testes e as diferenças temporais de respostas imunológicas de cada indivíduo, os TRs apresentam uma grande limitação em termos de confiabilidade para o diagnóstico das infecções (MINISTERIO DA SAUDE, 2020).

O Ministério da Saúde ressalta que a escolha do método de diagnóstico deve considerar qual objetivo deseja-se alcançar. Por exemplo, para o auxílio do diagnóstico clínico os TRs são ferramentas que auxiliam o médico, pois podem ser feitos no local de atendimento e auxiliam em casos epidêmicos, podendo delimitar ações como isolamento, tratamento adequado e se for o caso encaminhamento do paciente para um nível de atendimento mais complexo. Quando se objetiva analisar a população a nível geral, testes moleculares multiplex são mais indicados já que possibilitam monitorar e prever possíveis surtos de determinados vírus, auxiliando na tomada de decisão em saúde pública (MINISTERIO DA SAUDE, 2021).

Outro estudo abordou a importância da avaliação da acurácia dos testes e exames de diagnóstico, já que eles são parte crucial nas atividades de prevenção primária, secundária e nos desfechos de diversas doenças, havendo cada vez mais o aumento na demanda de testes confiáveis para os diagnósticos. A tomada de decisão para condutas acerca de doenças graves é diretamente influenciada pelo diagnóstico correto, podendo afetar o curso da história natural da doença, pois fornece subsídio para o raciocínio clínico, colaborando para a atuação dos profissionais da saúde em relação ao benefício e segurança dos pacientes (ALTACILIO et al., 2015).



A sensibilidade e a especificidade dos testes de diagnóstico são dois indicadores importantes para a validação do método utilizado. Através da sensibilidade, é possível identificar a capacidade do teste de detectar indivíduos que realmente tenham a doença. A especificidade trata da capacidade do teste em detectar corretamente os casos negativos da doença. A capacidade dos testes de identificarem verdadeiros positivos e verdadeiros negativos é importante para reduzir os prejuízos que resultados falsos positivos e falsos negativos podem acarretar, como por exemplo danos ao paciente em relação a falta do diagnóstico, ao tratamento desnecessário, além dos gastos envolvidos na realização de novos testes e procedimentos desnecessários (ALTACÍLIO et al., 2015).

JUSTIFICATIVA

O diagnóstico molecular e detecção dos casos de influenza e outros vírus respiratórios vem sendo realizado há alguns anos, devido ao Sistema Global de Vigilância e Resposta à Influenza realizado pela OMS. A OPAS aproveitou os NICs e os Laboratórios Centrais de Saúde Pública que já dispunham de uma rede laboratorial bem estabelecida para introduzir e ampliar o protocolo de detecção molecular para vírus respiratórios, agora incluindo o SARS-CoV-2 (OPAS, 2021).

Durante a pandemia de covid-19 os testes laboratoriais desempenharam um papel de grande importância, auxiliando o acompanhamento clínico e ambulatorial dos casos de infecção por SARS-CoV-2. A Vigilância Laboratorial se deu como parte da Vigilância em Saúde para o enfrentamento da pandemia, pois é responsável pela emissão do laudo laboratorial, pela testagem, permitindo o controle e o conhecimento da transmissão, da dinâmica, da história natural e das variantes do vírus SARS-CoV-2.

Considerando o novo cenário de doenças respiratórias, a testagem laboratorial deve ser feita de maneira conjunta com o sistema de vigilância, sendo capaz de identificar novas transmissões e o impacto da infecção viral na morbidade e mortalidade populacional. Para isso, é necessário realizar uma cobertura laboratorial abrangente, que represente o máximo possível a população observada. Os resultados dos testes possibilitam ações de atenção e vigilância mais fidedignas à realidade, auxiliando nas decisões de saúde em relação à prevenção, controle, diagnóstico e



prognóstico da doença, possibilitando a detecção precoce dos casos (MINISTERIO DA SAUDE, 2021).

Nesse cenário, as metodologias de ensaios moleculares se apresentam como mais vantajosas quando comparadas a outros métodos convencionais para detecção de vírus respiratórios, pois apresentam maior sensibilidade e a rápida detecção (ALI et al., 2011).

A importância de compreender as limitações dos testes laboratoriais é evidenciada com o surgimento de novos vírus respiratórios capazes de causar epidemias. Tem-se os ensaios moleculares como um método útil e eficaz para detectar os vírus em amostras respiratórias (MERCKX, 2022). Com a implementação dos ensaios multiplex por meio da Coordenação-Geral de Laboratórios (CGLAB) em parceria com a OPAS, é possível economizar esforços e detectar mais de um patógeno em um único ensaio (OPAS, 2021).

OBJETIVOS

Objetivos Gerais

Descrever a tendência de SRAG (síndrome respiratória aguda grave por SARS-CoV-2, Influenza e Vírus Sincial Respiratório Humano) no âmbito do Distrito Federal nos anos de 2018 a 2022.

Objetivos Específicos

- Descrever a tendência de SRAG por agente etiológico SARS-CoV-2, Influenza e HRSV, nos anos de 2018 a 2022 no Distrito Federal.
- Descrever a acurácia dos kits multiplex RT-PCR para doenças respiratórias utilizados pela Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública.

METODOLOGIA

Tendência de Síndrome Respiratória Aguda Grave



O presente estudo trata de um estudo ecológico de séries temporais. Foram utilizados dados secundários para analisar a tendência de SRAG por SARS-CoV-2, Influenza e HRSV, no Distrito Federal, no período de 2018 a 2022.

Foram analisados os casos notificados de SRAG com infecção confirmada para SARS-CoV-2, Influenza ou HRSV, no período de 1º de janeiro de 2018 a 31 de dezembro de 2022 no Distrito Federal. Os dados foram obtidos através do sistema de informação on-line SIVEP - Gripe, disponibilizados pelo Ministério da Saúde.

As variáveis analisadas neste estudo incluíram: os casos de síndrome respiratória aguda grave, o agente etiológico responsável pela infecção e a semana epidemiológica do início dos sintomas.

Os critérios de inclusão delimitados foram os casos de síndrome respiratória aguda grave com o diagnóstico positivo para pelo menos um dos vírus estudados (SARS-CoV-2, Influenza e HRSV), com o início dos sintomas entre janeiro de 2018 a dezembro de 2022.

Foram excluídos os casos que não apresentaram confirmação para pelo menos um dos vírus estudados (SARS-CoV-2, Influenza e HRSV). Também foram excluídos os casos de SRAG por outros vírus respiratórios.

Para o processamento e análise dos dados foi utilizado o software Microsoft Excel, versão 2019.

O banco de dados disponibilizado no SIVEP - Gripe precisou ser tratado e padronizado. O banco de dados é disponibilizado por ano, portanto inicialmente todos os casos positivos foram agrupados por agente etiológico (SARS-CoV-2, Influenza e HRSV) e posteriormente, os dados dos anos 2018, 2019, 2020, 2021 e 2022 foram unificados. Por fim, os casos de SRAG foram separados por semana epidemiológica e somados para a elaboração dos gráficos.

Desempenho dos testes

Para descrever a acurácia dos testes de diagnóstico para vírus respiratórios realizados pela Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública foi realizada uma busca nas bases de dados do Ministério da Saúde, onde foram identificados 106 kits de diagnóstico molecular para vírus respiratórios pelo método RT-PCR.

Após levantamento dos testes, foram selecionados para análise apenas os testes que se adequavam aos critérios de inclusão.



Na primeira etapa foram incluídos todos os testes com indicação para mais de um vírus respiratório e foram excluídos todos os testes cujo diagnóstico incluía apenas um vírus respiratório, restando apenas 48 testes.

Na segunda etapa foram selecionados todos os testes que detectavam os vírus influenza, SARS-CoV-2 e vírus sincicial respiratório humano, totalizando 9 testes. Por último, foram excluídos os testes cujo manual técnico não estava disponível no site do fabricante, no site de consultas da Anvisa ou da agência regulatória que o produto está registrado, restando 3 testes elegíveis para a análise.

Por fim, após seleção dos testes, foi realizada a leitura dos manuais técnicos dos produtos e uma busca na literatura científica, na base de dados PubMed (Medline) e na base de dados Google Acadêmico, para extração das informações: indicação de uso, tipo de amostra biológica, sensibilidade e especificidade.

Considerações éticas

Esse trabalho não foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), considerando que foram utilizados dados não nominais, de acesso público, obtidos a partir do SIVEP – Gripe, por meio da plataforma OpenDataSUS.

RESULTADOS

Considerando o início dos sintomas registrado nos bancos de dados de SRAG, foram registrados no Distrito Federal 1.442 casos de SRAG em 2018 até a semana epidemiológica 52 e em 2019 foram registrados 2.155 até a semana epidemiológica 52. Com a pandemia de COVID-19 o número de casos de SRAG foi substancialmente maior do que o observado nos anos anteriores, com 23.652 casos notificados até a Semana Epidemiológica 53. No ano de 2021 foram notificados 20.777 casos até a semana epidemiológica 52 e em 2022 foi observado uma queda nos casos, quando comparado aos outros anos pandêmicos, com 15.288 casos notificados até a semana epidemiológica 52.

Nos cinco anos analisados, houve 1186 casos de SRAG por vírus influenza no Distrito Federal, sendo que em 2018 foram registrados 184 até a SE 49, em 2019 foram notificados 430 casos até a SE 43, em 2020 foram 36 casos até a SE 42, em



2021 foram 139 casos notificados até a SE 52 e em 2022 foram notificados 397 casos até a SE 52.

No ano de início da pandemia de COVID-19, 2020, a quantidade de casos de SRAG por influenza foi 11 vezes menor que o ano anterior. Em 2021, observa-se o maior pico de casos que inicia em novembro, na SE 48 se estendendo até janeiro de 2022, com 137 na SE 1. Em setembro de 2022 na SE 36 o número de casos de SRAG voltou a subir até o mês de outubro, com o total de 124 casos nesse período, neste ano foram registrados (Gráfico 1).

Gráfico 1. Casos de SRAG pelo vírus Influenza por Semana Epidemiológica no Distrito Federal, 2018 a 2022.



Fonte: SIVEP - Gripe (elaboração própria).

Quanto aos casos de síndrome respiratória aguda grave relacionados ao vírus sincicial respiratório, no ano de 2018 foram registrados 430 casos de SRAG por HRSV até a SE 52, com maior pico no período de março a maio, atingindo 50 casos na SE 14. No ano de 2019 foram registrados 602 casos por HRSV, sendo o maior número registrado entre fevereiro e maio (Gráfico 2).

No ano de 2020 houve um baixo número de casos notificados de SRAG por HRSV, totalizando 65 casos, cenário similar ao vírus influenza. Porém, em 2021 os casos voltam a aparecer, com 550 casos registrados no ano e atingiram seu maior pico na SE 11, com 56 casos como mostram os gráficos 3 e 4. Outro pico de casos foi observado no final desse mesmo ano. O início de 2022 foi marcado por uma onda crescente de SRAG por HRSV desde a SE 1, persistindo até o mês de maio, e um segundo pico foi observado no final do ano com início em novembro. Foram registrados 1.034 casos no total em 2022, sendo esse o maior número de casos de SRAG por HRSV em um ano considerando o período analisado (Gráfico 2).



Gráfico 2. Casos de SRAG pelo Vírus Sincicial Respiratório Humano por Semana Epidemiológica no Distrito Federal, 2018 a 2022.



Fonte: SIVEP - Gripe (elaboração própria).

Considerando que o primeiro caso de covid-19 no Distrito Federal foi registrado em março de 2020, nesse ano foram registrados 16.675 casos de SRAG por SARS-CoV-2, alcançando o número máximo de 940 casos por semana epidemiológica na SE 30. No início de 2021, o Distrito Federal registrou uma segunda onda de covid-19 que foi responsável por um segundo pico de casos, chegando no máximo de 1.035 casos em uma semana epidemiológica, o número elevado de casos persistiu entre o período de março a setembro deste ano (Gráfico 3).

No final de 2021 e início de 2022 foi registrada uma nova variante para o SARS-CoV-2, elevando novamente o número de casos de SRAG, porém esse número foi menor do que nas demais ondas de covid-19, com número máximo de 494 casos de SRAG na SE 4, comportamento observado com o aumento da cobertura vacinal de covid-19. O ano de 2022 ainda registrou mais dois picos de casos entre maio e julho, e outro, no período de novembro em dezembro (Gráfico 3).

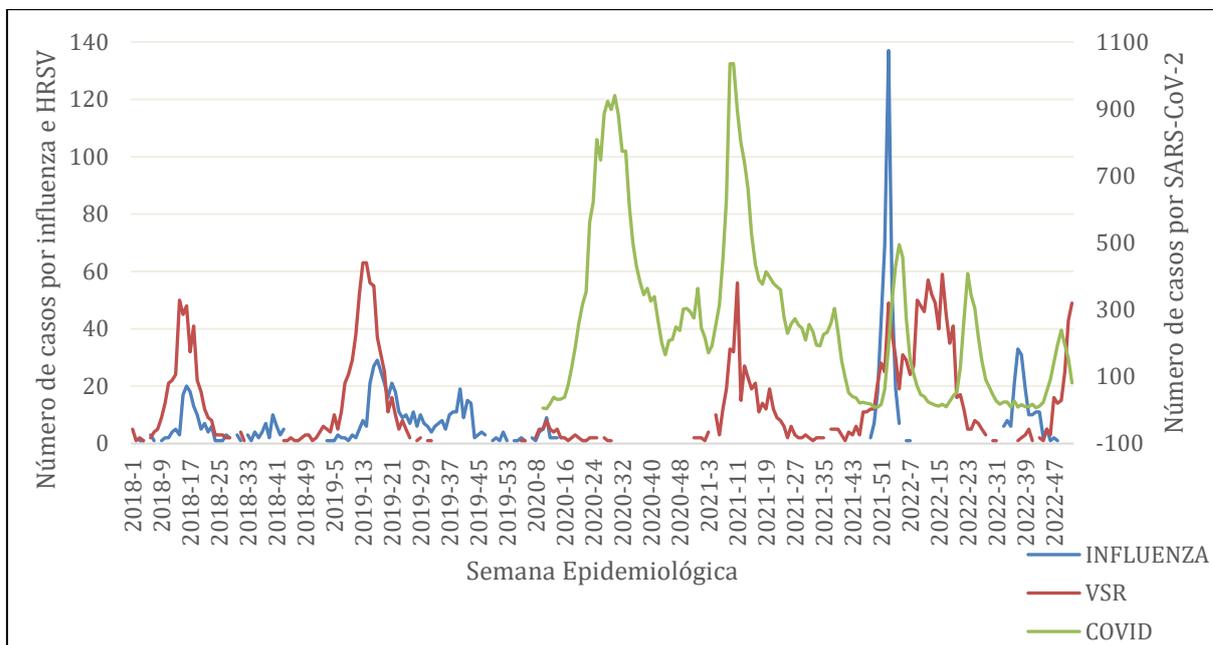
Gráfico 3. Casos de SRAG pelo vírus SARS-CoV-2 por Semana Epidemiológica no Distrito Federal, 2020 a 2022.



Fonte: SIVEP - Gripe (elaboração própria).



Gráfico 4. Casos de SRAG por influenza, HRSV e SARS-CoV-2 por Semana Epidemiológica no Distrito Federal, 2018 a 2022.



Fonte: SIVEP - Gripe (elaboração própria).

Quanto ao desempenho dos testes realizados pela RNLSP, observou-se que a maioria dos kits para diagnóstico molecular identificados na primeira etapa detecta exclusivamente SARS-CoV-2 (80%), e a maioria dos kits multiplex identificados não incluem a análise simultânea de SARS-CoV-2, influenza e HRSV, sendo apenas o Allplex™ SARS-COV-2/FLUA/FLUB/RSV Assay (Seegene) indicado para a detecção desses três vírus (Tabela 1).

O Allplex™ SARS-COV-2/FLUA/FLUB/RSV Assay tem como objetivo a detecção dos genes N, RdRP e S do SARS-CoV-2, além do vírus influenza (A e B) e o vírus sincicial respiratório. Os resultados do teste são positivos quando todos os genes alvos são encontrados, no caso do SARS-CoV-2 os alvos são o nucleocapsídeo (N), RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) e regiões de codificação de pico (S). Para o vírus influenza os alvos são os genes da matriz (M), nucleoproteína (NP), não estrutural (NS) 1 e NS. Para o HRSV, o gene da matriz (M).

Pesquisadores avaliaram o desempenho analítico de três testes moleculares RT-PCR, multiplex registrados na agência regulatória americana *Food and Drug Administration* – FDA, para detecção simultânea de SARS-CoV-2, influenza A/B e RSV em swabs nasofaríngeos, dentre eles o Allplex™ SARS-COV-2/FLUA/FLUB/RSV. Foram realizados testes de detecção e análises de reatividade



cruzada. Foram analisadas 704 amostras que incluíam amostras positivas para SARS-CoV-2, influenza A e B, RSV e outros vírus respiratórios, e amostras negativas. Foi utilizado o ensaio AdvanSure™ (AdvanSure; LG Life Sciences) como comparador para o HRSV (YUN et al., 2021)

Os achados desse estudo demonstraram que Allplex não apresenta diferenças significativas quando comparado com os outros testes que detectam SARS-CoV-2 e influenza, apresentando 92% de concordância. O Allplex apresentou maior sensibilidade para o HRSV do que o teste AdvanSure (YUN et al., 2021). Em relação à detecção de SARS-CoV-2 o foi concluído que o ensaio Allplex aumentou a sensibilidade para o SARS-CoV-2 quando comparado ao ensaio de alvo único.

O kit do fabricante Fast Track Diagnostics, FTD Respiratory Pathogen 21, tem a intenção de detectar infecções respiratórias causadas por 21 vírus respiratórios, dentre eles o vírus influenza A e B e o HRSV. Se trata de um teste RT-PCR que detecta patógenos em amostras respiratórias, por meio da extração de ácidos nucleicos da amostra. Após essa extração, é feita uma mistura com enzima, tampão, desoxirribonucleotídeo trifosfato (dNTPs) e primers sintéticos e sondas específicas para as sequências-alvo.

Autores compararam um ensaio multiplex com o kit multiplex FTD. Foram analisadas 356 amostras respiratórias obtidas de crianças com infecção aguda do trato respiratório. O estudo apresentou concordância entre os dois métodos de 100% para todos os vírus influenza A, 99,75% para o influenza B e de 94,66% para o HRSV.

O fabricante avaliou a precisão de FTD com estudos de repetibilidade (variação intra-ensaio) e de reprodutibilidade (variação entre lotes e ensaios) com uma concentração próxima ao limite de detecção. Nesses testes são avaliadas as medições realizadas nas mesmas condições e avalia os resultado das medições em diferentes condições, respectivamente. Dados acerca da sensibilidade e especificade do teste encontram-se na Tabela 1.

O Kit Xgen Multi Pr21 (Mobius Life Science) detecta 21 patógenos respiratórios, incluindo influenza A e B e o HRSV. Martinez estudou 38 amostras respiratórias hospitalares com o objetivo de comparar o método de imunofluorescência direta com o kit D³ Ultra™ DFA com os kits Xpert Xpress Flu/RSV e XGen Multi PR21. Foi



observado que o teste molecular XGen Multi PR21 foi mais sensível quando comparado a metodologia de IFD.

Tabela 1. Desempenho dos testes RT-PCR multiplex utilizados pela Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública.

FABRICANTE	NOME DO TESTE	TIPO DE AMOSTRA	MÉTODO	SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE
Fast Track Diagnostics	FTD Respiratory Pathogen 21	swab nasofaríngeo	RT-PCR	LoD FLUA 2.8×10^4 / LoD FLUB 9.8×10^2 / LoD HRSV A 1.0×10^3 / LoD HRSV B 1.2×10^4 cópias/mL	FLU 100%/ HRSV 99,5%
Mobius Life Science	Painel Respiratório 21 Patógenos	swab nasal e de garganta, lavado broncoalveolar e escarro	RT-PCR	LoD FLUAB HRSV 10^4 cópias/mL	100% para todos os vírus
Seegene	SARS-COV-2/FLUA/FLUB/RSV Assay	swab nasal e de garganta, lavado broncoalveolar	RT-PCR	SARS-CoV-2 97,5%/ HRSV 99,5% / FLU 100%	Foi testado para a reatividade cruzada para 131 diferentes patógenos e a detecção e amplificação do PCR só foram identificados para os alvos especificados.

Fonte: Ministério da Saúde; Manual FTD Respiratory Pathogen 21; manual Painel Respiratório 21 Patógenos; manual SARS-COV-2/FLUA/FLUB/RSV Assay (elaboração própria). LoD – Limit of Detection; FLUAB – influenza A e B; FLU – influenza; HRSV – vírus respiratório sincicial humano.

DISCUSSÃO

Este estudo abordou a tendência de SRAG no Distrito Federal, como também a relevância dos testes RT-PCR multiplex para vírus respiratórios. As infecções respiratórias por SARS-CoV-2, influenza e HRSV são semelhantes em relação aos sintomas, porém também são distintas, tanto em relação ao tratamento como às medidas de controle, por exemplo, quando levado em consideração que a covid-19 é uma doença que demanda estratégias rígidas e rápidas como quarentena e isolamento, ações não observadas se tratando de influenza e HRSV (YUN, 2021).

Importante reforçar que este trabalho apresenta limitações quanto a magnitude dos dados, ou seja, é possível que uma parcela dos casos reais não tenha sido captada pelos sistemas de informações. Outra grande limitação é o correto diagnóstico aqui apresentado.

A tendência de SRAG no Distrito Federal em relação ao histórico apresentam um sinal de queda quando observada a longo prazo (INFO-Gripe, 2022). Na semana



epidemiológica 4 de 2023, o Ministério da Saúde publicou que nas 4 últimas semanas epidemiológicas, a prevalência entre os casos positivos de SRAG foi de 0,6% Influenza A, 0,3% Influenza B, 1,6% vírus sincicial respiratório, e 92,4% SARS-CoV-2.

Como observado no presente estudo, o Distrito Federal apresentou uma queda de casos de SRAG por influenza e HRSV no início da pandemia de covid-19, estudos apontam que as medidas protetivas realizadas para o controle da pandemia podem ter impactado fortemente a transmissão e propagação desses vírus respiratórios, que são amplamente transmitidos em locais de trabalho e escolar, no transporte público, entre outros locais com alto índice de aglomeração (KORSUN et al., 2023).

A partir da aprovação da vacina para o SARS-CoV-2 e com o aumento da cobertura vacinal, foi observado uma queda dos casos de SRAG por covid o que desencadeou o relaxamento das medidas de proteção, como o isolamento social, a redução de pessoas em regime de home office e o estudo a distância (KORSUN et al., 2023). Nesse cenário, outros vírus respiratórios voltaram a aparecer como causas de SRAG, como mostrado nos gráficos 1 e 2.

O ano de 2021 apresentou o maior número de casos de SRAG por influenza do período analisado, podendo estar associado também às medidas de controle como também à diminuição da cobertura vacinal de influenza. Esse fator deve ser posto em pauta, pois com o aumento da demanda dos serviços de saúde devido à covid-19, as medidas de controle e prevenção de influenza devem ser reforçadas para evitar sobrecarga e saturação dos setores de saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

O ano de 2022 no Distrito Federal foi marcado pelo aumento de número de casos de SRAG por HRSV, vírus que acomete majoritariamente a população infantil, que agora estão em creches e escolas. Casos de infecção por HRSV nessa população na maioria dos casos alcançam o sistema respiratório inferior, potencialmente desenvolvendo um caso grave da doença, quadro que deve ser considerado quando se fala de controle e manejo das síndromes respiratórias agudas graves, podendo também sobrecarregar os setores de saúde.

Ainda que o SARS-CoV-2 continue sendo o maior responsável por casos graves de síndrome respiratória aguda desde março de 2020, a cocirculação de outros vírus respiratórios é um fator importante a ser levado em consideração no contexto das doenças respiratórias (KORSUN et al., 2023). A infecção por SARS-CoV-2,



influenza e HRSV podem apresentar sintomas clínicos semelhantes tornando o diagnóstico clínico um desafio para os profissionais de saúde, impactando o manejo do cuidado, da morbidade e mortalidade principalmente da população de risco como imunossuprimidos, idosos, crianças e pessoas com comorbidades (YUN et al, 2021).

Os pacientes que apresentam sintomas respiratórios devem ser diagnosticados de forma rápida e precisa no cenário pandêmico de SARS-CoV-2, fazendo-se importante a distinção desta com o vírus influenza e o vírus sincicial respiratório humano (OPAS, 2021). O diagnóstico laboratorial desempenha papel crucial como auxílio às decisões clínicas, ao planejamento de medidas de controle e prevenção de doenças associadas a infecções virais respiratórias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

O Ministério da Saúde preconiza o diagnóstico molecular como método mais eficaz de diagnóstico para vírus respiratórios, sendo classificado como padrão ouro. Os testes moleculares são úteis para sequenciamento de variantes do SARS-CoV-2, e os kits utilizados na rede nacional de laboratórios de saúde pública guardam sensibilidade e especificidade adequadas para a detecção de SARS-CoV-2 (Ministério da Saúde, 2022).

A Organização Pan-Americana de Saúde determina que os testes RT-PCR multiplex devem ser priorizados para o diagnóstico realizados pela rede nacional de laboratórios de saúde pública. Apesar de ter um custo maior, os ensaios multiplex foram implementados como forma de economizar esforço e tempo detectando mais de um patógeno em uma única reação, assim como o menor consumo de insumos necessários para os ensaios, tendo um maior custo-benefício (MALHOTRA et al, 2016).

Atualmente, apesar dos demais testes RT-PCR realizados pela RNLSP serem altamente sensíveis, o kit de diagnóstico laboratorial para a detecção de mais de um vírus respiratório são os mais adequados para o cenário de diferentes vírus circulantes na população (OPAS, 2021). O kit Allplex é o único dentre os listados pela RNLSP que realizam concomitantemente a detecção de SARS-CoV-2, influenza e HRSV.

Destaca-se a importância de analistas laboratoriais capacitados para analisarem as limitações que os ensaios de diagnóstico apresentam. Existem vários fatores que influenciam os resultados dos exames moleculares, como o processo de coleta, armazenamento e processamento da amostra, reações cruzadas, inadequabilidade do aparelho, fluxo de trabalho dentro do laboratório de análise,



medidas de biossegurança, entre outros. Esses condicionantes podem causar resultados falso positivo, como também falso negativos, prejudicando o processo de diagnóstico (KIM et al, 2022).

Neste estudo não foi possível concluir se todos os laboratórios da RNLSP utilizam o teste multiplex para SARS-CoV-2, influenza e HRSV. Porém, foi informado pelo LACEN-DF, por meio da Lei nº 12.527 que prevê a transparência e o acesso dos cidadãos às informações públicas, que o kit Allplex SARS-COV-2/FLUA/FLUB/RSV Assay é utilizado para fins de diagnóstico de vírus respiratórios nos exames realizados na unidade do Distrito Federal.

Em relação aos casos de síndrome respiratória aguda grave, cabe ressaltar que o baixo número de registros pode ser afetado pelo intervalo entre o tempo da identificação, investigação e diagnóstico e o preenchimento das fichas no sistema de informação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os vírus respiratórios são responsáveis por grande parte das doenças respiratórias graves desenvolvidas no Brasil. Nesse trabalho foi observado que novamente o vírus sincicial respiratório humano e o vírus influenza voltam a aparecer como causas de síndrome respiratória aguda grave.

Os vírus respiratórios SARS-CoV-2, influenza e HRSV desempenham um papel importante na causa de síndrome respiratória aguda grave. O vírus da covid-19 é responsável por mais 90% dos casos de SRAG no Brasil, necessitando de um diagnóstico preciso e confiável. Dados acerca do patógeno responsável por causar doenças respiratórias são de extrema importância para entender o curso natural da doença, para minimizar o impacto das formas graves, com o controle e prevenção adequado.

Os diagnósticos laboratoriais são de extrema importância para o conhecimento dos vírus respiratórios de importância circulantes, auxiliando os setores de saúde e profissionais na organização de estratégias, aquisição de insumos farmacológicos e não farmacológicos, promovendo medidas de controle e prevenção para casos graves das doenças.



Os testes moleculares destinados ao diagnóstico simultâneo de mais de um vírus respiratório são ferramentas essenciais para o cenário de cocirculação no Distrito Federal. Apesar da pouca variedade de multiplex destinados a SARS-CoV-2 e outros vírus respiratórios, os testes utilizados pela Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública se mostraram sensíveis e eficazes.

O setor farmacêutico influencia diretamente no controle de qualidade dos diagnósticos laboratoriais, fazendo parte da produção de novas tecnologias, da análise do desempenho dos métodos utilizados, assim como da aprovação de registro de novas tecnologias de diagnóstico nas agências regulatórias, como a Anvisa,

Cabe ressaltar que, de acordo com a publicação da Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 595, de 28 de janeiro de 2022, os testes de diagnóstico *in vitro* a serem registrados no país devem apresentar estudos de desempenho estabelecidos pela Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 36, de 26 de agosto de 2015, no Plano Nacional de Expansão da Testagem para Covid-19 e em demais regulamentos aplicáveis.

O profissional farmacêutico deve estar a par do desempenho e das limitações dos testes de diagnóstico realizados nos laboratórios de análise molecular, tendo conhecimento dos processos, acompanhando os resultados e garantindo de qualidade do laudo liberado ao paciente, sendo um ator ativo na tecnovigilância.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, S.A. *et al.* Real-world comparison of two molecular methods for detection of respiratory viruses. **Viol J**, 8(332), jun 2011.

BHART, Malhotra *et al.* Evaluation of custom multiplex real - time RT - PCR in comparison to fast - track diagnostics respiratory 21 pathogens kit for detection of multiple respiratory viruses. **Virology Journal**, 13-91, 2016.

CAMPOS, Luis *et al.* COVID-19 and Seasonal Flu During the Autumn-Winter of 2020/2021 and the Challenges Lying Ahead for Hospitals. **Revista Científica da Ordem dos Médicos**, [s. l.], v. 33, ed. 11, p. 716-719, 2020.

CODEÇO, Cláudia *et al.* The epidemic wave of influenza A (H1N1) in Brazil, 2009. **Cadernos de Saúde Pública**, [s. l.], v. 28, ed. 7, 2012. DOI <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2012000700011>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/yqvsGKppqgLb6RhZy4WGddQ/?lang=en>. Acesso em: 12 set. 2022.

EISEN, Ana Karolina. Vírus respiratórios em amostras clínicas de indivíduos com suspeita de Síndrome Respiratória Aguda Grave durante a pandemia de SARS-CoV-2 em 2020. 2021. 36f. **Diagnóstico em Virologia** – Universidade Feevale, Novo Hamburgo-RS, 2021.

FAST TRACK DIAGNOSTICS. FTD™ Respiratory pathogens 21. Luxenburgo, 2019, 45p.

KIM, Ha Nui *et al.* Comparison of three molecular diagnostic assays for SARS-CoV-2 detection: Evaluation of analytical sensitivity and clinical performance. **Journal of clinical laboratory analysis**, 36(2), jan, 2022.

LIMA, Rosilene. A importância do diagnóstico das infecções respiratórias agudas em crianças de 0 a 5 anos na atenção primária a saúde. 2011. 20. Universidade Federal de Minas Gerais, Araçuaí, 2011.



MARTÍNEZ, Luana. Estudo de comparação entre técnicas moleculares de PCR e a técnica de imunofluorescência direta na pesquisa de vírus respiratórios. Hospital de Clínicas, Porto Alegre, 2019.

MERCKX, Joanna *et al.* Diagnostic Accuracy of Novel and Traditional Rapid Tests for Influenza Infection Compared With Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction: A Systematic Review and Meta-analysis. **Annals of Internal Medicine**, [s. l.], 2017. DOI <https://doi.org/10.7326/M17-0848>. Disponível em: <https://www.acpjournals.org/doi/full/10.7326/M17-0848>. Acesso em: 5 dez. 2022.

MINISTERIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde | Secretaria de Saúde do Distrito Federal. Monitoramento da Síndrome Gripal e Síndrome Respiratória Aguda Grave no Distrito Federal até a Semana Epidemiológica 34 de 2022. **Boletim Epidemiológico**, [s. l.], n. 23, 2022. Disponível em: https://www.saude.df.gov.br/documents/37101/0/BOLETIM+epidemiol%C3%B3gico+gripe+DF_SE+34+2022.pdf/52ed1c9e-4ea8-e41f-72b491c1eeb6b296?t=1662133577928. Acesso em: 5 set. 2022.

MINISTERIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Protocolo de Tratamento de Influenza: 2017. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, [s. l.], ed. 1, p. 1-49, 2018. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_tratamento_influenza_2017.p df. Acesso em: 5 set. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO ESPECIAL: Doença pelo Novo Coronavírus – COVID-19, Semana Epidemiológica. 146, dez. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde – DGITIS/SCTIE. CORONAVÍRUS COVID-19: Acurácia dos testes diagnósticos registrados na ANVISA para a COVID-19. Brasília, 2020.



MINISTÉRIO DA SAÚDE. Diretrizes para a Atenção Especializada no Contexto da Pandemia de COVID-19. jun. 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza no Brasil. Editora MS. Brasília, 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA: EMERGÊNCIA DE SAÚDE PÚBLICA DE IMPORTÂNCIA NACIONAL PELA DOENÇA PELO CORONAVÍRUS 2019. 1. ed. Brasília, 2021. v. 3.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasília). Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza no Brasil. [S. l.: s. n.], 2016. 64 p. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_laboratorial_influenza_vigilancia_influenza_brasil.pdf. Acesso em: 5 set. 2022.

MOBIUS LIFE SCIENCE. Instruções de Uso XGEN MULTI PR21 Kit MULTIPLEX para Detecção de 21 Patógenos Respiratórios. Pinhais, 2021, 11p.

NASCIMENTO, Cesar. Detecção do Vírus Respiratório Sincicial Humano (HRSV) pela RT-PCR em tubo único, em amostras clínicas. 2006. p57. **Virologia clínica e molecular, Biotecnologia** - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

NETO, Eduardo *et al.* Influenza. **Rev Soc Bras Med Trop.** [s. l.], v. 36, ed. 2, p. 267-274, 2003. DOI 10.1590/s0037-86822003000200011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12806464/>. Acesso em: 12 set. 2022.

NUNES, A. A.; MARTINEZ, E. Z.; ANA, L. W.; PAZIN-FILHO, A.; COELHO, E. B.; MELLO, L. M. de. Testes diagnósticos contexto da avaliação de tecnologias em saúde: abordagens, métodos e interpretação. **Medicina (Ribeirão Preto)**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 8-18, 2015. DOI: 10.11606/issn.2176-7262.v48i1p8-18. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/96826>. Acesso em: 10 fev. 2023.

OLIVEIRA, G. M. et al. Revisão sistemática da acurácia dos testes diagnósticos: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, n. Rev. Col. Bras. Cir., 2010 37(2), mar. 2010.



PEREZ, Mary. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS: COMO FAZER? POR QUE ELA É IMPORTANTE? Instituto de tecnologia de alimentos, São Paulo. 22(3), 2010.

PETERLAND, Christin *et al.* Infecções pelo vírus da gripe humana. **The Public Health Emergency Collection**, [s. l.], v. 37, ed. 4, p. 487-500, 2016. DOI 10.1055/s-0036-1584801. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7174870/>. Acesso em: 5 set. 2022.

PETROVA, Velislava *et al.* The evolution of seasonal influenza viruses. **Nature Reviews Microbiologia** volume, [s. l.], v. 16, p. 47-60, 2018. DOI <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.118>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.118#citeas>. Acesso em: 12 set. 2022.

QUITUIZACA, Paulina *et al.* Propuesta de análisis territorial para enfrentar la pandemia por SARS-CoV-2 basado en el perfil de neumonía e influenza en Ecuador 2016-2018. *Atención Primaria*, [s. l.], v. 53, ed. 5, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2021.102021>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S021265672100055X?via%3Dihub>. Acesso em: 12 set. 2022.

SANTOS, N. S. O.; Romanos, M. T. V.; Wigg, M. D.; Couceiro, J. N. S. S. *Virologia Humana*. 4ª edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA, 2021.

SEEGENE INC. Instruções de Uso Allplex SARS-CoV-2/FluA/FluB/RSV Assay. 69p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Departamentos Científicos de Imunizações, Infectologia, Alergia, Otorrinolaringologia e Pneumologia. Atualização no tratamento e prevenção da infecção pelo vírus influenza - 2020.

STOWE, Julia *et al.* Interações entre SARS-CoV-2 e influenza e o impacto da coinfeção na gravidade da doença: um design negativo para o teste. **International Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 50, ed. 4, p. 1124-1133, 2021. DOI 10.1093/ije/dyab081. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8135706/>. Acesso em: 5 set. 2022.



UYEKI, Timothy M; HUI, David S; ZAMBON, Maria; WENTWORTH, David E; MONTO, Arnold S. Influenza. **The Lancet**, [s. /], v. 400, p. 693-706, 2022.

YUN, Jiwon et al. Evaluation of Three Multiplex Real-time Reverse Transcription PCR Assays for Simultaneous Detection of SARS-CoV-2, Influenza A/B, and Respiratory Syncytial Virus in Nasopharyngeal Swabs. **Journal of Korean medical science**, 36(48), dec, 2021.