



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE CEILÂNDIA**

**CURSO DE FARMÁCIA**

**MARIA CECÍLIA EUCLIDES DE OLIVEIRA**

**DETECÇÃO MOLECULAR DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS EM PROFISSIONAIS DA  
SAÚDE**

**BRASÍLIA**

**2023**

MARIA CECÍLIA EUCLIDES DE OLIVEIRA

**DETECÇÃO MOLECULAR DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS EM PROFISSIONAIS DA  
SAÚDE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Faculdade de Ceilândia, da Universidade de  
Brasília, como requisito parcial para obtenção  
do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Dr. Rodrigo Haddad

BRASÍLIA

2023

MARIA CECÍLIA EUCLIDES DE OLIVEIRA

**DETECÇÃO MOLECULAR DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS EM PROFISSIONAIS DA  
SAÚDE**

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Dr. Rodrigo Haddad

(Universidade de Brasília – UnB/FCE)

Évelin Mota Cassemiro

(Universidade de Brasília – UnB/FCE)

Pâmela Maria de Oliveira

(Universidade de Brasília – UnB/FCE)

BRASÍLIA

2023

## AGRADECIMENTOS

À Deus, em primeiro lugar, que me conhece profundamente e diariamente me capacita e me fortalece para superar os obstáculos da vida.

Aos meus pais, Jucilene e Edson, que sempre estiverem ao meu lado, me apoiando nas minhas decisões e propiciando os melhores recursos para que eu sempre pudesse ter acesso à uma educação de qualidade.

Ao meu amado noivo, Mateus, que além de colega de curso e profissão, se tornou o meu melhor amigo e meu companheiro de vida.

À minha irmã, Ana Júlia, que mesmo sendo a irmã mais velha, sempre voltou seus olhos para mim com muita admiração, inspiração e orgulho.

Ao meu irmão caçula, Júnior, que me ensina todos os dias a me alegrar com as coisas simples da vida.

À minha querida família, que sempre acreditou no meu potencial e torce continuamente pela minha felicidade.

Aos meus amigos de graduação, que constituíram a minha segunda família durante a minha jornada na Universidade de Brasília. Sou imensamente grata a cada brincadeira, cada piada interna, cada lanche no Maycon Douglas, aos nossos momentos no Centro Acadêmico e até aos nossos surtos anteriores às provas. Sem dúvida alguma, a presença dessas pessoas incríveis permitiu que eu pudesse trilhar o meu caminho de forma mais leve nesta graduação.

À todos os professores que tive o privilégio de conhecer na Faculdade de Ceilândia, principalmente aqueles que me aceitaram como aluna nas diversas atividades de monitoria, extensão, pesquisa e tutoria que a Faculdade me oferece.

Ao meu orientador, professor Rodrigo, pelo suporte, disponibilidade e compreensão que proporcionaram que esta monografia pudesse ser concluída.

À Pâmela, Évelin e Tatyane, que me auxiliaram na execução dos experimentos e contribuíram para o desenvolvimento deste presente trabalho.

Por fim, agradeço a todos os profissionais que tive a oportunidade de trabalhar no decorrer dos meus estágios e agora, no meu primeiro emprego como farmacêutica. O meu

desenvolvimento profissional só está sendo possível pelo aprendizado obtido durante a convivência com essas pessoas.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Fluoróforos utilizados no kit SARS-Cov-2/FluA/Flub/RSV Allplex™ .....	19
<b>Tabela 2</b> - Reagentes utilizados no preparo do Mastermix .....	20
<b>Tabela 3</b> - Protocolo de ciclagem utilizado na RT-PCR.....	20
<b>Tabela 4</b> - Resultados da detecção viral pelo ensaio de RT-PCR nas amostras .....	22
<b>Tabela 5</b> - Frequência de vírus respiratórios entre os profissionais da saúde do sexo masculino e feminino .....	25
<b>Tabela 6</b> - Frequência da detecção viral em relação à presença e ausência de sintomas .....	27

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Distribuição mensal do números de casos de infecções virais no período do estudo.....	24
<b>Figura 2</b> - Detecção viral em relação à categoria ocupacional .....	26

## RESUMO

A pandemia da Covid-19 ocasionou uma diminuição na circulação de outros vírus respiratórios. Entretanto, esses patógenos continuaram representando um desafio no diagnóstico, pois possuem vias de transmissão e manifestações clínicas similares à infecção por SARS-CoV-2. No que concerne aos profissionais de saúde, a detecção precisa de agentes etiológicos é crítica já que estes são considerados uma população de risco e podem ser alvos de infecção e fontes de contaminação dentro da comunidade. Neste contexto, este estudo objetivou identificar 4 diferentes vírus respiratórios (SARS-CoV-2, VSR, Influenza A e Influenza B) que poderiam ser responsáveis pelo quadro de síndrome gripal em profissionais da saúde da Unidade Básica de Saúde nº 1, localizada na Cidade Estrutural – DF durante a pandemia de Covid-19. Para tal análise, foram testadas, mediante o ensaio RT-PCR multiplex, 309 amostras de esfregaço nasofaríngeo, de profissionais da saúde, que já tinham sido previamente testadas somente para detecção do SARS-CoV-2. O vírus sincicial respiratório (VSR) foi o mais incidente nas amostras que tinham anteriormente obtido resultado negativo para Covid-19, sendo que a maioria das detecções ocorreu dentro do seu período de sazonalidade e em profissionais do sexo feminino que apresentaram sintomas nos dias de coleta. Além disso, o VSR foi o responsável pela única coinfeção identificada durante o processamento das amostras.

**Palavras-chaves:** detecção simultânea; profissionais da saúde; RT-PCR; vírus respiratórios



## ABSTRACT

The Covid-19 pandemic caused a decrease in the circulation of other respiratory viruses. However, these pathogens have continued being a diagnostic challenge, as they have similar transmission routes and clinical manifestations to SARS-CoV-2 infection. With regard to healthcare workers, accurate detection of etiologic agents is critical as they are considered a population at risk and may be targets of infection and sources of contamination within the community. In this context, this study aimed to identify 4 different respiratory viruses (SARS-CoV-2, RSV, Influenza A, and Influenza B) that could be responsible for the influenza like illness in health professionals from Unidade Básica de Saúde nº 1, located in Cidade Estrutural - DF during the Covid-19 pandemic. For this analysis, 309 samples collected from the nasopharyngeal swab of health professionals who had been previously tested only for SARS-CoV-2 were tested by multiplex RT-PCR assay. Respiratory syncytial virus (RSV) was most incident in samples that had previously tested negative for Covid-19, with most detections occurring within its seasonal period and in female healthcare workers who had symptoms on the days of collection. In addition, RSV was responsible for the only coinfection identified during sample processing.

**Keywords:** health care workers; respiratory viruses; RT-PCR; simultaneous detection

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO COM REVISÃO DE LITERATURA E JUSTIFICATIVA.....	11
1.1	REVISÃO DA LITERATURA .....	12
1.1.1.	Coronavírus .....	12
1.1.2.	Influenza Vírus .....	13
1.1.3.	Vírus Sincicial Respiratório .....	15
1.2.	JUSTIFICATIVA .....	15
2	OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS .....	17
2.1	OBJETIVO GERAL .....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
3	METODOLOGIA .....	18
3.1	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	18
3.2	COLETA E PROCESSAMENTO PRÉVIO DAS AMOSTRAS .....	18
3.3	DETECÇÃO DOS VÍRUS INFLUENZA A/B, SARS-CoV-2 E VSR.....	18
3.3.1	Preparo do Mastermix de RT-PCR.....	19
3.3.2	Amplificação do material genético .....	20
3.3.3	Visualização da amplificação e análise de resultados .....	21
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	22
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	30
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	31

## 1 INTRODUÇÃO COM REVISÃO DE LITERATURA E JUSTIFICATIVA

A Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) causada pelo coronavírus 2 (SARS-CoV-2) foi previamente detectada na China no final do ano de 2019 e logo se tornou preocupação internacional após alerta da Organização Mundial da Saúde (OMS) que elevou o surto local em Wuhan a uma pandemia (WHO, 2020). Mediante o esforço mundial de conter a infecção causada pelo SARS-CoV-2, a utilização de máscaras, o distanciamento social e a frequente higienização das mãos, também promoveu uma menor transmissão de outros vírus, como Influenza e o Vírus Sincicial Respiratório (VSR), mesmo em seus meses sazonais em 2020 (OLSEN, S. J. et al., 2021; DI MATTIA, G. et al., 2021; KAROLINA, A. et al., 2021).

Os vírus Influenza e VSR são vírus humanos respiratórios comuns, que circulam em todos os continentes e que tradicionalmente causam significativas taxas de morbidade e mortalidade (BONCRISTIANI, H. F. et al., 2009). Anualmente, a infecção por Influenza afeta quase 10% da população mundial e resulta na morte de cerca de meio milhão de pessoas (JAVANIAN, M. et al., 2021). Em relação ao VSR, sua gravidade está relacionada à infecção em idosos, imunocomprometidos e principalmente em menores de 1 ano, sendo este o agente infeccioso mais presente em bronquiolite e pneumonia em bebês (CDC, 2020).

Mesmo com a reduzida circulação, esses patógenos virais continuaram representando um desafio no diagnóstico, pois possuem vias de transmissão e manifestações clínicas similares à infecção por SARS-CoV-2, com predominância de sintomas de febre, tosse, fadiga e dispneia (BEN SHIMOL, A. et al., 2021). Sendo assim, o emprego de ensaios moleculares como Reação em Transcriptase Reversa Seguida pela Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR), é essencial para detecção e diferenciação rápida de vírus emergentes, tanto em pacientes como também em profissionais da saúde, já que estes são considerados uma população de risco (BAKER, M. G. et al., 2020).

No Brasil, até o dia 1º de março de 2021, dos 144.420 casos notificados de Síndrome Gripal (SG) em profissionais da saúde, 39.510 (27,4%) foram confirmados para COVID-19. Os demais 104.910 casos notificados (72,6%) permaneceram sob investigação. Porém, o diagnóstico para outros vírus não foi bem estabelecido até 2021 (BRASIL, 2021). Diante disso, é fundamental para saúde pública explorar a infecção causada por outros vírus respiratórios nesses indivíduos, para conhecer quais são esses vírus e estabelecer políticas de controle dessas infecções. Este estudo se insere neste contexto, uma vez que objetiva identificar 4 diferentes vírus respiratórios (SARS-CoV-2, VSR, Influenza A e Influenza B) que poderiam ser

responsáveis pelo quadro de síndrome gripal em profissionais da saúde da Unidade Básica de Saúde nº 1, localizada na Cidade Estrutural – Distrito Federal, durante a pandemia da COVID-19.

## 1.1 REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1.1. Coronavírus

Os coronavírus possuem o genoma constituído por Ácido Ribonucleico (RNA) de fita simples senso positivo, que contém cerca de 27 a 32 kb (quilobase), tornando-se assim o maior genoma dentre os vírus de RNA (WANG et al., 2020). Estes vírus pertencem à família *Coronaviridae* e subfamília *Orthocoronavirinae*, sendo que esta subfamília possui quatro gêneros: *Alfacoronavírus*, *Betacoronavírus*, *Gamacoronavírus* e *Deltacoronavírus* (KADAM et al., 2021). Tais vírus são conhecidos por infectar humanos, outros mamíferos e algumas espécies de pássaros, causando doenças de ordem respiratória, entérica, hepática e até mesmo neurológica (ZHU et al., 2020).

Dentre os seis coronavírus que eram conhecidos por causar infecções em humanos, quatro deles - Coronavírus Humano 229E, Coronavírus Humano OC43, Coronavírus Humano NL63 e Coronavírus Humano HKU1 – provocam sintomas de resfriado em indivíduos imunocomprometidos. Os outros dois, o Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) e o Coronavírus da Síndrome Respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV) foram agentes causadores de surtos em 2002 e 2012, respectivamente (ZHU et al., 2020).

O SARS-CoV surgiu em 2002 na província de Guangdong na China e durante sua circulação entre os anos de 2002-2004, infectou cerca de 8.098 pessoas e resultou na morte de 774 indivíduos (~10% de taxa de mortalidade) em 29 países antes de desaparecer. Em 2012, o MERS-CoV chegou na Arábia Saudita, causou um surto na Coreia do Sul em 2015 e outro na Arábia Saudita em 2018, e ainda hoje, surge esporadicamente em algumas regiões do globo.

Até janeiro de 2020, foram confirmados 2.519 casos e cerca de 866 mortes (~35% de taxa de mortalidade) em 27 países que estavam associados à infecção pelo MERS-CoV (LI et al., 2020). O SARS-CoV-2, que emergiu na China em 2019, é a segunda espécie viral relacionada à síndrome respiratória aguda grave que é capaz de causar uma epidemia humana (GRÄF, 2020), sendo que até meados de julho de 2023, cerca de 767.726.861 casos foram confirmados para Covid-19 e dentre esses, 6.948.764 resultaram em óbitos em todas as partes do globo (WHO, 2023).

Apesar da proximidade genética entre os SARS-CoVs supracitados, já que ambos fazem parte do gênero *Betacoronavirus* e compartilham cerca de 79,6% da mesma sequência de nucleotídeos (ZHOU, P. et al., 2020), o SARS-CoV-2 não é de fato um descendente do SARS-CoV. Além de possuírem fatores externos independentes de introdução em humanos, estes vírus possuem espectro de doença e eficiência de transmissão distintos (GORBALENYA et al., 2020).

O genoma do SARS-CoV-2 contém aproximadamente 29.9 kb, cujo dois terços são ocupados pelos genes Open Reading Frames (ORFs) 1a e 1b, que são traduzidos nas poliproteínas pp1a e pp1ab, precursoras de 16 proteínas não estruturais (NSP), envolvidas na transcrição e replicação do vírus (BORGES, A. et al., 2020), como por exemplo a NSP-12, que contém a RNA-polimerase RNA dependente (RdRp), que é um componente crítico da replicação e transcrição do coronavírus (WANG et al., 2020).

A outra parte do genoma viral é constituída pelos genes S, M, N e E que são responsáveis por codificar as quatro proteínas estruturais do vírus, sendo elas: proteína do envelope (E), proteína *spike* ou espícula (S) e a proteína de membrana (M), que estão associadas ao envelope viral. Já a proteína do nucleocapsídeo (N), faz parte da estrutura que envolve o material genético do SARS-CoV-2 (WANG et al., 2020).

### **1.1.2. Influenza Vírus**

Os vírus Influenza são vírus envelopados que possuem RNA de fita simples segmentado, com senso negativo, que pertencem à família *Orthomyxoviridae* e são os agentes causadores da gripe, uma doença respiratória em humanos (TE VELTHUIS & FODOR, 2016). Existem quatro categorias de vírus Influenza: A, B, C e D (PAULES & SUBBARAO, 2017), sendo que o tipo D afeta principalmente suínos e bovinos e ainda não há registro de infecção em humanos (JAVANIAN, M. et al., 2021).

Os vírus influenza A e influenza B contêm oito segmentos de RNA, que codificam as subunidades de RNA polimerase (PB1, PB2 e PA), as glicoproteínas virais hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA), a nucleoproteína (NP); a proteína de matriz (M1), a proteína de membrana (M2), a proteína de exportação nuclear (NEP) e as proteínas não estruturais NS1 e NS2. Enquanto isso, o genoma viral dos tipos C e D possuem apenas sete segmentos de RNA (KRAMMER, F. et al., 2018)

Os vírus do tipo A podem ser classificados com base na variação das glicoproteínas HA e NA que compõem a superfície do envelope. Cerca de 16 variantes antigênicas de HA e nove

variantes antigênicas de NA foram identificadas (PAULES & SUBBARAO, 2017). Ao contrário dos vírus influenza A, os vírus do tipo B não são classificados em subtipos (JAVANIAN, M. et al., 2021), porém suas duas linhagens antigenicamente distintas, Victoria e Yamagata, são co-circulantes em seres humanos (BENNETT J.E., et al., 2015).

As glicoproteínas HA e NA do vírus Influenza A desempenham um papel essencial na virulência e patogênese do vírus (JAVANIAN, M. et al., 2021), sendo que HA se liga aos receptores da célula hospedeira e propicia a fusão da membrana do vírion com a membrana do hospedeiro. Enquanto NA, atua na replicação viral e cliva o ácido siálico dos constituintes da membrana celular hospedeira, que permite a saída dos vírions nascentes (BYRD-LEOTIS, L. et al., 2017)

Tanto o Influenza A como o Influenza B causam morbidade e mortalidade substanciais globalmente e são os patógenos mais comuns em epidemias, enquanto o vírus Influenza C, provoca surtos esporádicos com sintomas respiratórios leves e afeta principalmente crianças (TE VELTHUIS & FODOR, 2016). Ao longo dos últimos 100 anos, quatro pandemias foram ocasionadas por Influenza: a gripe espanhola H1N1 em 1918, a gripe asiática H2N2 em 1957, a gripe de Hong Kong H3N2 em 1968 e a gripe suína H1N1 em 2009 (PAULES & SUBBARAO, 2017). A pandemia mais severa foi a gripe espanhola de 1918, que resultou na morte de mais de 50 milhões de pessoas no mundo (BIGGERSTAFF, M. et al., 2014).

Durante cada período pandêmico, o vírus surgiu diretamente de um hospedeiro aviário (1918); através do rearranjo entre um vírus aviário e uma estirpe humana circulante (1957 e 1968); ou através do rearranjo do vírus influenza em suínos (2009) e disseminação através da população humana (PAULES & SUBBARAO, 2017). O genoma segmentado, a existência de reservatórios naturais em aves e suínos, bem como o a sua variação antigênica, que ocorre em maior escala em Influenza A, são as principais causas da proteção limitada das vacinas já disponíveis e também do surgimento de novas estirpes potencialmente pandêmicas (TE VELTHUIS & FODOR, 2016).

O processo de variação antigênica é resultado de dois mecanismos distintos: *drift* antigênico e *shift* antigênico. O *drift* antigênico é um processo contínuo que ocorre tanto na influenza A quanto no vírus Influenza B e resulta do acúmulo de mutações pontais nos genes de HA e NA. O *drift* é impulsionado principalmente pela alta taxa de mutações virais devido à ausência de mecanismos de reparo da RNA-polimerase dependente de RNA viral. O *shift* antigênico é um evento esporádico, restrito ao vírus influenza A e refere-se à introdução em

seres humanos de uma nova cepa de vírus à qual uma grande proporção da população não tem imunidade (PAULES & SUBBARAO, 2017; BENNETT J.E., et al., 2015).

### 1.1.3. Vírus Sincicial Respiratório

O Vírus Sincicial Respiratório (VSR) é conhecido como um importante agente infeccioso de infecções do trato respiratório em crianças em todo o mundo (MESQUITA, F. S. et al., 2017). Globalmente, estima-se que o VSR cause 33 milhões de novos casos de infecção aguda do trato respiratório inferior em crianças menores de 5 anos de idade, resultando em ~ 3,2 milhões de hospitalizações por ano e ~ 120.000 mortes (SHI, T. et al., 2017)

O VSR é um vírus envelopado, com RNA fita simples não segmentado, com senso negativo que pertence ao gênero *Pneumovirus* e à recém-criada família *Pneumoviridae*. O VSR foi isolado pela primeira vez em 1956 em um primata e seu genoma é constituído por 10 genes com aproximadamente 15,222 nucleotídeos que codificam 11 proteínas. Destas, três são proteínas não estruturais (NS1 e NS2 e M2-2), e oito são proteínas estruturais: N, P, M, M2-1, L, F, G, SH (MEJIAS, A. et al, 2020; BORCHERS, A. T. et al, 2013).

Dentre as proteínas estruturais, cabe ressaltar aquelas que são encontradas no envelope viral: a glicoproteína G, a glicoproteína F e a proteína hidrofóbica pequena (SH). A SH não é necessária para o início da infecção viral, já as glicoproteínas F e G, são cruciais para a infectividade e patogênese do vírus. A proteína G propicia a ligação do vírus às células hospedeiras alvo, as células ciliadas das vias aéreas. A proteína F possibilita a fusão e a entrada do vírus às membranas celulares do hospedeiro e no final da infecção faz com que as células infectadas se fundam, induzindo a produção dos sincícios característicos (BORCHERS, A. T. et al, 2013; MEJIAS, A. et al, 2020).

O VSR tem dois subgrupos conhecidos, A e B, e pode causar vários quadros clínicos, desde uma gripe comum a bronquiolite e pneumonia, causadas pela necrose dos brônquios e bronquíolos (MESQUITA, F. S. et al., 2017). Ambos subgrupos podem ser co-circulantes na mesma estação e como sua sazonalidade é variável, normalmente é possível detectar infecções durante todo o ano. Contudo, sabe-se que a maior incidência ocorre no inverno (MESQUITA, F. S. et al., 2017).

## 1.2. JUSTIFICATIVA

Durante a pandemia da COVID-19 diversos pacientes com sintomas característicos de infecções virais, dentre eles sintomas respiratórios, tiveram amostras de *swab* coletadas e testadas por RT-PCR somente para a presença do SARS-CoV-2. Muitos desses casos resultaram

como negativos para SARS-CoV-2, levando a indefinição do caso. Esta mesma situação se estendeu aos profissionais de saúde que apresentaram síndrome gripal.

Outras doenças respiratórias causadas pelo VSR e pelo vírus Influenza podem estar circulando em uma população, porém o foco somente na COVID-19 pode mascarar essa circulação, levando ao risco de transmissão por não isolamento dos portadores. Diante disso, a testagem molecular para VSR e Influenza A/B de forma adicional à testagem para o SARS-CoV-2, permite a identificação desses outros agentes virais durante a pandemia da COVID-19 e possibilita que ações no intuito de diminuir sua circulação sejam tomadas.



## 2 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo principal realizar a detecção molecular de vírus respiratórios (VSR, Influenza A e Influenza B) empregando o ensaio de RT-PCR em amostras de profissionais de saúde previamente testados para a presença do SARS-CoV-2.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a porcentagem de infecções respiratórias (SARS-CoV-2, VSR e Influenza A e B) na população estudada.
- Identificar a presença de agentes virais nas amostras de *swab* nasofaríngeo que testaram negativo para SARS-CoV-2.
- Correlacionar a presença ou a ausência de sintomas com o patógeno viral identificado nas amostras.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo está inserido no projeto “Vigilância ambulatorial e custos catastróficos relacionados à COVID19 em área vulnerável”, que foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Fundação de Ensino e Pesquisa do DF - CEP/FEPECS, com o CAAE N° 40557020.6.3001.5553”.

#### 3.2 COLETA E PROCESSAMENTO PRÉVIO DAS AMOSTRAS

As amostras utilizadas neste trabalho são provenientes de profissionais da saúde, de ambos os sexos, com idade entre 23 a 65 anos, que são lotados na Unidade Básica de Saúde n° 1, localizada na Cidade Estrutural. O *swab* de nasofaringe foi coletado a cada 30 dias, contando a partir da primeira dose do esquema vacinal contra a COVID-19.

A coleta foi realizada em profissionais com ausência e presença de sinais/sintomas relacionados às infecções respiratórias virais. No caso de presença, um questionário de síndrome gripal era respondido para descrição mais detalhada do quadro sintomatológico apresentado. A amostragem ocorreu entre os meses de março de 2021 e julho de 2022, pela equipe devidamente qualificada do Projeto ZARICS, que realiza projetos de vigilância epidemiológica de infecções virais no Distrito Federal.

Com o auxílio de um *swab*, o material foi coletado da cavidade nasofaríngea de cada participante e em seguida, os *swabs* foram acondicionados em tubos estéreis contendo meio de transporte viral e foram conduzidos para o Laboratório de Diagnóstico Molecular, localizado no Hospital Universitário de Brasília. As amostras foram mantidas sob refrigeração por no máximo 48 horas, até o momento da extração do RNA viral.

A extração do material genético se deu por meio do extrator e purificador de DNA e RNA EXTRACTA 32, da fabricante LOCCUS, que é um sistema automatizado que realiza a extração utilizando *beads* magnéticas. Após a extração, as amostras foram submetidas à amplificação gênica por meio de RT-PCR com kit de ensaio de rotina do Laboratório de Diagnóstico Molecular. As alíquotas contendo o material genético viral extraído foram armazenadas em *ultrafreezer* com temperatura de – 80°C para sua devida preservação.

#### 3.3 DETECÇÃO DOS VÍRUS INFLUENZA A/B, SARS-CoV-2 E VSR

Durante os quatro períodos de coletas, foram coletadas 351 amostras para somente a detecção molecular do SARS-CoV-2, sendo que a primeira amostra foi coletada no mês de março de 2021 e a última em setembro de 2022. Para o presente estudo, foi adotado como

critério de exclusão a ausência da data do primeiro processamento nos tubos das amostras criopreservadas. Ao final da seleção, 309 amostras foram incluídas para serem reprocessadas para detecção dos vírus influenza A/B, SARS-CoV-2 e VSR por meio do ensaio PCR multiplex em tempo real.

Foi utilizado o kit SARS-Cov-2/FluA/Flub/RSV Allplex™ (Seegene Brazil) de acordo com as recomendações do fabricante. Em suma, este kit habilita a amplificação e diferenciação simultânea dos ácidos nucleicos alvos do gene S, gene RdRP e gene N, que constituem o genoma do SARS-CoV-2, bem como os vírus Influenza A, Influenza B e VSR. A tabela 1 apresenta os fluoróforos utilizados na reação de RT-PCR para detecção de cada um dos vírus investigados.

**Tabela 1** - Fluoróforos utilizados no kit SARS-Cov-2/FluA/Flub/RSV Allplex™

<b>Fluoróforo</b>	<b>Alvos</b>
<b>FAM</b>	Gene S/VSR
<b>HEX</b>	Gene RdRP/ Flu B
<b>Cal Red 610</b>	Gene N/Flu A
<b>Quasar 670</b>	IC Endógeno/ IC Exógeno

### 3.3.1 Preparo do Mastermix de RT-PCR

Para a mistura da reação, foi previamente calculada a quantidade total de cada reagente para uma placa branca de 96 poços, considerando 94 poços para as amostras e os outros 2 poços para o controle positivo e negativo do kit.

A Tabela 2 descreve o conteúdo de cada reagente presente no kit, assim como os respectivos volumes utilizados para se obter o volume final de 1575 µL de Mastermix. Após a preparação, a mistura foi submetida à agitação por vórtex e centrifugação. Posteriormente, foram aliquotados 15 µL do Mastermix na placa e logo em seguida, foram adicionados 5 µL da amostra de RNA já descongelada.

Para o controle negativo, foram utilizados 10 µL de *RNase-free Water* ao invés do ácido nucléico da amostra. Para o controle positivo, foram utilizados 10 µL de SC2FabR, este reagente é uma mistura de patógeno e clones do controle interno (IC). O IC Endógeno é utilizado para verificar se as amostras foram coletadas adequadamente, enquanto o IC Exógeno monitora o processo de extração do ácido nucléico e verifica alguma possível inibição da PCR.

**Tabela 2** - Reagentes utilizados no preparo do Mastermix

Reagentes	Descrição	Volume para cada reação	Volume total no Mastermix
SC2FabR MOM	Oligo Mix: Reagente de detecção e amplificação RTase	5 µL	525 µL
EM8	Polimerase DNA Uracil-DNA glicosilase	5 µL	525 µL
RNase-free Water	Tampão com dNTPs Água ultrapura, grau de PCR	4 µL	420 µL
RP-V IC 2	IC Exógeno	1 µL	105 µL
Volume Final	-	15 µL	1575 µL

### 3.3.2 Amplificação do material genético

Para realização da RT-PCR em tempo real, foi utilizado o Sistema de Detecção por PCR em Tempo Real CFX96™ (Bio-Rad Laboratories) seguindo as condições descritas na Tabela 3. A fluorescência é detectada a 60°C e 72°C.

**Tabela 3** - Protocolo de ciclagem utilizado na RT-PCR

Número de ciclos	Temperatura	Duração
1	50° C	20 minutos
	95° C	15 minutos
	95° C	10 segundos
2	60° C	40 segundos
	72° C	20 segundos
	95° C	10 segundos
42	60° C	15 segundos
	72° C	10 segundos

### 3.3.3 Visualização da amplificação e análise de resultados

Após a amplificação, a análise de resultados foi realizada no *software* Seegene Viewer. A presença de sequências de genes específicos é indicada pela intensidade de fluorescência a cada novo ciclo da reação e, ao final do ensaio, é estabelecido o limiar de detecção denominado *threshold*.

À medida que as curvas de amplificação ultrapassam o limiar, são gerados valores de Ct que indicam a quantidade de ciclos necessários para que o alvo atinja o limiar de detecção durante a amplificação. Portanto, quanto maior a quantidade de material genético presente na amostra, menor é o número de ciclos necessários para a detecção de fluorescência.

Conforme descrito pelo fabricante, para verificação dos resultados, os valores de Ct que são obtidos nas curvas de amplificação devem ser  $\leq 40$  para os alvos detectados e  $> 40$  para alvos não detectados.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para este estudo foi possível testar, mediante o ensaio de PCR multiplex em tempo real, 309 amostras que estavam criopreservadas. Conforme visualizado na Tabela 4, o SARS-CoV-2 foi identificado em 45 amostras (14,6%), o VSR em 7 (2,3%), 6 amostras (1,9%) obtiveram o resultado positivo para o vírus Influenza A e nenhuma amostra foi identificada com o vírus Influenza B.

**Tabela 4** - Resultados da detecção viral pelo ensaio de RT-PCR nas amostras

<b>Deteccção dos Patógenos</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
<b>Não detectado</b>	250	80,9
<b>SARS-CoV-2</b>	45	14,6
<b>RSV</b>	7	2,3
<b>Influenza A</b>	6	1,9
<b>SARS-CoV-2 + VSR</b>	1	0,3
<b>Influenza B</b>	0	0
<b>Total</b>	309	100,0

O uso do ensaio de RT-PCR multiplex para detecção de vírus respiratórios não emergiu somente com a pandemia da COVID-19. Um exemplo disso, é o aumento significativo dessa metodologia entre os anos de 2011 e 2019 para detecção do metapneumovírus humano, uma das maiores causas de infecções agudas no trato respiratório e cujo cultivo é excepcionalmente fastidioso (JEONG, S. et al., 2020). Além disso, para os vírus avaliados neste trabalho, uma revisão sistemática publicada em 2021, concluiu que os ensaios multiplex demonstraram alta acurácia diagnóstica para os vírus Influenza A, Influenza B e VSR quando comparados aos ensaios convencionais como os testes rápidos de antígenos e o cultivo celular (HUANG, H. S. et al., 2018)

Muitos estudos apresentam a pesquisa simultânea desses vírus diante da similaridade que eles apresentam, já que os vírus discutidos neste trabalho compartilham do mesmo tipo de material genético, o RNA, e também possuem períodos curtos de incubação e rápida replicação viral. Além disso, os vírus Influenza, SARS-CoV-2 e VSR atingem principalmente os tecidos mucoides do hospedeiro sem causar viremia, o que gera uma resposta imune tardia, bem depois do pico de replicação e transmissão para outros indivíduos, e que em boa parte das infecções, os sinais e sintomas são quase indiferenciáveis (MORENS, D. M. et al., 2023).

A título de exemplo, em um artigo publicado em 2021, o ensaio multiplex foi empregado para testagem de 205 amostras de *swab* nasal de pacientes internados com suspeita de COVID-19. Semelhante ao resultado obtido no presente estudo, dentre as amostras testadas, 55 (26,8%) foram positivas para SARS-CoV-2 e nas outras 150 amostras, 19 (12,7%) foram positivas para o Influenza A, 5 (3,3%) apresentaram o Influenza B e em 2 amostras (1,3%) o VSR foi identificado (CHUNG, H. Y. et al., 2021).

Quanto aos meses de coleta das amostras, nota-se na Figura 1, que a maior frequência de infecções detectadas para o SARS-CoV-2 e o vírus Influenza A, foi entre o mês de janeiro e fevereiro de 2022. Neste período, foi possível identificar 17 infecções causadas pelo SARS-CoV-2, 5 casos de Influenza A e somente 1 infecção ocasionada pelo VSR. É importante ressaltar, que para o SARS-CoV-2 o período citado corresponde à terceira onda da COVID-19 no Brasil, com predominância da variante Ômicron, cujo início se deu entre os últimos meses de 2021 e o pico ocorreu na 6ª Semana Epidemiológica de 2022, independente da cobertura vacinal que já estava sendo realizada (MOURA, E. C. et al., 2022).

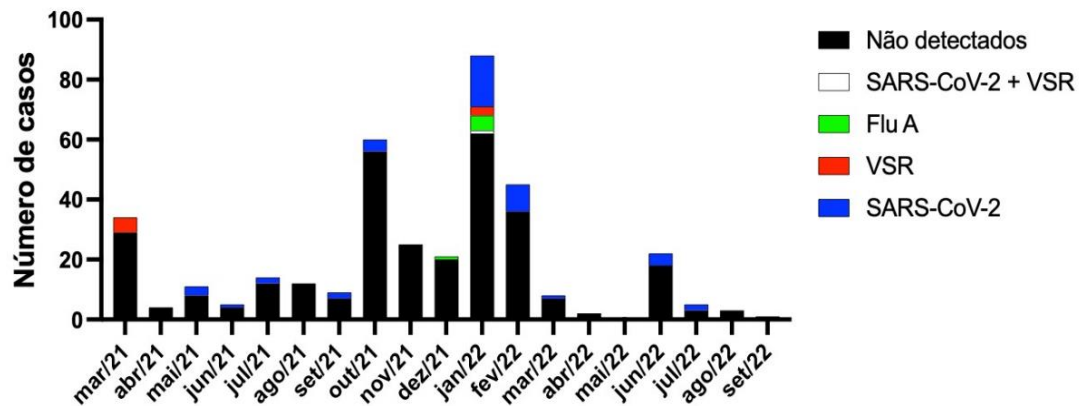
Em relação ao Influenza A, o resultado apresentado na Figura 1 também correspondeu com os resultados apresentados no Boletim Epidemiológico nº 1 de 2022 do DF. Ainda que a circulação deste vírus estivesse limitada perante a predominância do SARS-CoV-2, foi possível detectar novamente casos de Influenza entre os últimos meses de 2021, resultando assim em um percentual de 23,7% dos casos detectáveis até a 10ª Semana Epidemiológica de 2022 no Distrito Federal (BRASIL, 2022).

De maneira geral, há uma certa dificuldade de estabelecer uma sazonalidade para o Influenza no Brasil, já que o país possui dimensões continentais que abrange seis subtipos climáticos. Nas regiões do sul, onde o clima é subtropical, pode-se afirmar que exista uma maior atividade deste vírus nos meses do inverno, entre junho e setembro. Contudo, no caso do DF, região do Centro-Oeste predominantemente tropical, as semanas de pico de incidência do Influenza nos últimos anos foram próximas do início do verão (ALMEIDA, A. et al., 2018), diferentemente do que foi encontrado neste trabalho, cujo o maior número de casos foi detectado no final do verão.

Acerca do Vírus Sincicial Respiratório, no período supracitado, sua presença foi identificada em cerca de 1,0% das 97 amostras detectáveis no Distrito Federal até a 10ª SE de 2022 (BRASIL, 2022), ou seja, é possível inferir que há uma baixa circulação do vírus neste período no DF. Este resultado é congruente com o que é estabelecido acerca da sua

sazonalidade, já que o VSR possui seus picos de circulação na região Centro-Oeste do Brasil entre os meses de março e julho (BRASIL, 2015) e este achado também pode ser visualizado na figura abaixo, pois a maior detecção de casos deste vírus no presente estudo (n=5), foi no mês de março de 2021.

**Figura 1** - Distribuição mensal do números de casos de infecções virais no período do estudo



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Neste trabalho também foi possível a obtenção de 1 amostra que apresentou uma infecção concomitante do SARS-CoV-2 e do VSR. Esta coinfeção apesar de não ser bem elucidada e possuir lacunas na literatura disponível (CONG, B. et al., 2022), já foi citada em estudos com populações infantis, correspondendo coinfeções com COVID-19 moderada (ZANG C. et al.,2020), coinfeções com admissões em hospitais (LI, Y. et al., 2021) e hospitalizações por síndrome respiratória aguda em bebês menores de 24 meses (ALVARES, P. A., 2021). Entretanto, em nenhum desses estudos mencionados, foi possível associar que essa coinfeção aumentava a chance de necessitar de suplementação de oxigênio ou fazer uso da ventilação mecânica e também não houve um aumento na chance de ser admitido em unidades de terapia intensiva ou ter a morte como um desfecho (CONG B. et al, 2022).

No que se refere às diferenças biológicas, as amostras provenientes das mulheres constituíram a maioria das testagens (n=246), sendo que em 36 dessas amostras (14,6%) identificou-se o SARS- CoV-2, 6 (2,4%) detectaram o VSR e 5 (2,0 %) apresentaram o Influenza A. Em relação às 12 amostras positivas dos homens participantes, o SARS- CoV-2 foi identificado em 9 amostras (14,3 %), o VSR se apresentou em 1 amostra (1,6%) e o Influenza A foi detectado em somente 1 amostra (1,6%), conforme visualizado nas Tabela 5. A amostra que apresentou a coinfeção do SARS- CoV-2 e do VSR era proveniente de um participante do sexo masculino.



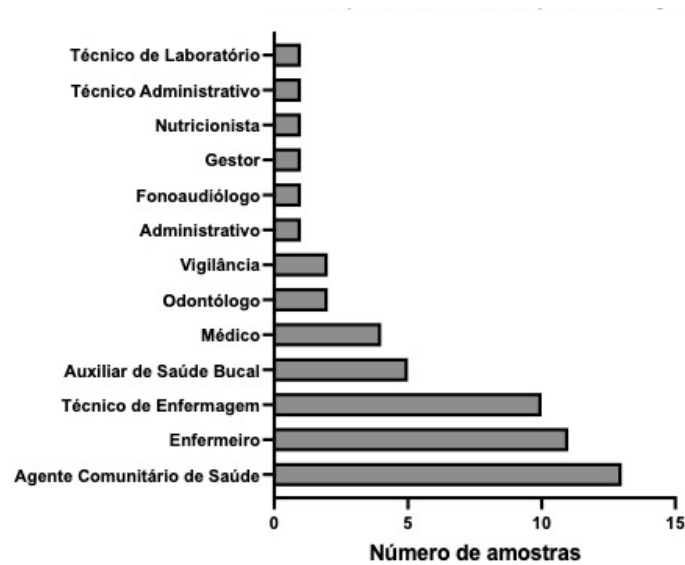
**Tabela 5** - Frequência da detecção viral entre os profissionais da saúde do sexo masculino e feminino

Sexo	Detecção viral					Total
	Não detectado	SARS-CoV-2	VSR	Influenza A	SARS-CoV-2 + VSR	
<b>Feminino</b>	199 80,9%	36 14,6%	6 2,4%	5 2,0%	0 0,0%	246
<b>Masculino</b>	51 80,9%	9 14,3%	1 1,6%	1 1,6%	1 1,6%	63
<b>Total</b>	250	45	7	6	1	309

Diante dos números apresentados, o grupo das mulheres foi o mais acometido pelas infecções virais aqui estudadas já que foi o grupo no qual a maioria das testagens foram realizadas. Apesar disso, não se pode afirmar que o sexo feminino é o mais susceptível as infecções virais pois em níveis percentuais, conforme observado na Tabela 5, dentre as mulheres, 199 amostras (80,9%) apresentaram um resultado negativo para qualquer infecção viral e em relação aos homens, 51 amostras (80,9%) também obtiveram resultado negativo, salientando que não houve diferença significativa em detrimento aos sexos.

Também foram observados no estudo que a média de idade dos participantes era de 43 anos e no que diz respeito à categoria ocupacional, os profissionais que obtiveram o maior número de resultados positivos para infecções virais, foram os agentes comunitários de saúde (n=13), seguido dos enfermeiros (n=11) e dos técnicos de enfermagem (n=10), conforme observado na Figura 2. Diante do contato direto e diário com diversos pacientes, tanto em unidades básicas de saúde como também nos níveis de atenção de média e alta complexidade, é esperado que esses profissionais estejam dentre os mais vulneráveis frente às viroses, como as estudadas neste trabalho.

**Figura 2 - Detecção viral em relação à categoria ocupacional**



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

No que se refere aos enfermeiros e técnicos de enfermagem, tais categorias também apresentaram alta frequência de infecção por SARS-CoV-2 em estudos semelhantes realizados aqui no Brasil (ALBUQUERQUE, M. F. P. M. et al., 2022; FAÍCO-FILHO, K. S. et al., 2020).

De igual modo, estes resultados não poderiam ser diferentes para os agentes comunitários de saúde, já que esses indivíduos estão mais próximos da população, atuando como articuladores no processo de educação em saúde e também identificando casos e monitorando suspeitos (NÓBREGA, W. F. S. et al., 2022).

O total de 75 amostras (24,3%) foram obtidas de profissionais que responderam ao questionário de síndrome gripal, ou seja, no dia da coleta havia a suspeita de COVID-19 por parte da população estudada. Para cada amostra coletada, o entrevistado podia relatar a presença de 33 diferentes tipos de sintomas listados e ainda descrever outros sintomas que não estavam contemplados no questionário. Dentre os 33 tipos de sintomas listados que foram referidos, os mais prevalentes durante os quatro períodos de coleta foram coriza (20,7%), cefaleia (15,8%), tosse (14,0%) e dor de garganta (13,7%).

Ainda em relação às amostras testadas da população que se apresentou sintomática (n=75), a média de dias de sintomas era de 4,12 dias e em 61 amostras (81,3%) não foi possível identificar nenhum patógeno viral avaliado neste trabalho. O agente causador da COVID-19, o SARS-CoV-2, foi detectado em 9 amostras (12,0%) e o Vírus Sincicial Respiratório foi encontrado em 5 amostras (6,7%). Os sintomas mais prevalentes nesse estudo estiveram

presentes pelo menos 1 vez nas amostras dos profissionais sintomáticos que testaram positivo para COVID-19 (n=9) e pelo menos 2 vezes nas amostras dos participantes que detectaram a infecção pelo VSR (n=5).

Adicionalmente, não foi possível fazer uma distinção nítida entre os sintomas relatados pelos profissionais sintomáticos cujas amostras testaram positivos para o SARS-CoV-2 entre aquelas amostras provenientes de indivíduos sintomáticos infectados pelo VSR. Os únicos sintomas referidos que talvez possam ter predito uma infecção por SARS-CoV-2, foi o relato da presença de anosmia e ageusia em uma amostra. Em relação a estes sintomas, um estudo que definiu critérios para testagem de profissionais da saúde, mostrou que apresentar ageusia/anosmia implica em 3,33 mais chances de predizer um resultado positivo para COVID-19 (CLEMENCY, B. M. et al., 2020). Entretanto, não foi possível estabelecer com certeza essa associação, já que este estudo não apresentou uma população tão representativa de sintomáticos que estavam infectados com agente virais.

**Tabela 6** - Frequência da vírus respiratórios em relação à presença e ausência de sintomas

Sintomas	Detecção viral					Total
	Não detectado	SARS-CoV-2	VSR	Influenza A	SARS-CoV-2 + VSR	
<b>Sim</b>	61 81,3%	9 12,0%	5 6,7%	0 0,0%	0 0,0%	75
<b>Não</b>	189 80,8	36 15,4%	2 0,8%	6 2,6%	1 0,4%	234
<b>Total</b>	250	45	7	6	1	309

Conforme apresentado na Tabela 6, dentre as amostras testadas de indivíduos que não apresentavam quadro sintomatológico nos dias de coleta (n=234), 189 (80,8%) foram negativas para patógenos virais. Nas demais, o SARS-CoV-2 foi detectado em 36 amostras (15,4%), o vírus Influenza A foi encontrado em 6 amostras (2,6%) e em relação ao VSR, sua presença foi

detectada em 2 amostras (0,8%). Além desses achados, nesse grupo assintomático, foi possível visualizar também a coinfeção do VSR e do SARS-CoV-2 após a realização do ensaio de RT-PCR.

Os resultados descritos acima apontam que a presença ou ausência de sintomas não define com certeza a detecção de uma infecção por um vírus. Conforme observado, para espécimes virais deste estudo, há a possibilidade da infecção ser pré-sintomática ou assintomática, até mesmo para o VSR, no qual esta situação é rara e na maioria dos casos, os infectados desenvolvem sintomas como coriza, dor de garganta e congestão nasal entre 3 e 5 dias após a infecção (NAM, H. H., ISON, M. G., 2019).

Para os profissionais da saúde, esse cenário mostra a necessidade de estabelecer medidas para manutenção da segurança dos ambientes de cuidado à saúde, visto que estes trabalhadores não estão apenas em um nível mais alto de risco ocupacional, mas eles também são uma fonte significativa de transmissão viral para seus colegas, familiares e pacientes (YOUSSEF, D. et al., 2022). Uma estratégia muito utilizada é a triagem de indivíduos sintomáticos antes do início do turno de trabalho, entretanto, para rastrear casos assintomáticos, conforme foi observado neste trabalho, tal medida pode ser ineficiente (HAIGH, K. Z. & GANDHI, M., 2021). Do mesmo modo, o uso de EPIs também é primordial, no caso do VSR, dados na literatura já exibiram que a taxa de adoecimento pelo vírus em profissionais de saúde após o manejo de pacientes, pode diminuir significativamente com o uso de máscaras e óculos (CHERRY J. D., 2020).

Adicionalmente, não se pode deixar de mencionar a adesão das vacinas por parte dessa categoria profissional. Embora seja fundamental, a cobertura vacinal entre profissionais da saúde ainda é baixa em muitos países (BIANCHI, F. P. et al., 2020) e se tratando da prevenção contra a gripe e a COVID-19, há vacinas disponíveis para ambas infecções. Além disso, existem evidências de que a aplicação da vacina contra o Influenza nestes profissionais durante a pandemia, foi capaz de prevenir e controlar a gripe e reduzir a pressão da COVID-19 sobre os sistemas de saúde (SHI, X. et al., 2022).

Em relação ao VSR, recentemente o órgão regulador sanitário dos Estados Unidos, o Food and Drug Administration (FDA), aprovou duas vacinas contra este vírus que demonstraram resultados promissores para a população idosa e mulheres gestantes (SONI, A. et al., 2023). Entretanto, a única alternativa profilática disponível no Brasil, é o anticorpo monoclonal Palivizumabe, que é distribuído pelo SUS somente para bebês de até 24 meses, que

possuem condições específicas como a displasia broncopulmonar ou a cardiopatia congênita e dessa forma, apresentam mais chances de serem acometidas pela bronquiolite aguda causada pelo VSR (BRASIL, 2015).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho contribuiu para o entendimento da circulação de vírus respiratórios durante o período de março de 2021 a setembro de 2022, abrangido pela pandemia da COVID-19. Apesar do SARS-CoV-2 ter sido a causa dessa recente emergência global e ter influenciado diretamente na circulação de outros patógenos virais, é interdito negligenciar a presença desses agentes infecciosos no ambiente de cuidado à saúde.

Os achados obtidos aqui mostraram que apesar do predomínio das amostras detectadas com o SARS-CoV-2, outros vírus foram identificados em amostras negativas dentre os profissionais de saúde testados. O vírus sincicial respiratório foi o mais incidente nessas amostras, sendo que a maioria das detecções ocorreu dentro do seu período de sazonalidade e em profissionais do sexo feminino que apresentaram sintomas nos dias de coleta. Além disso, o VSR foi o responsável pela única coinfeção identificada durante o processamento das amostras.

No presente estudo foi possível elucidar a presença desses vírus em profissionais da saúde, diferenciando-se da maioria dos trabalhos, que empregam o ensaio de RT-PCR multiplex e a pesquisa simultânea dos vírus avaliados, em pacientes internados ou atendidos por emergências. Diante disso, ressalta-se a importância de testar essa população e mitigar os riscos de contaminação em todos os níveis de saúde, inclusive na atenção primária, que foi o objeto de avaliação deste trabalho e que abrange as ações do agente comunitário de saúde, que foi a ocupação mais atingida nesta monografia.

Embora os resultados descritos sejam consideráveis para a finalidade proposta, pode-se citar como limitações deste estudo, a desistência dos participantes o que ocasionou no número limitado de amostras e na descrição limitada referente aos sinais e sintomas referidos no dia da coleta e além disso, não houve seguimento dos pacientes para verificar o desfecho diante da infecção detectada. Neste sentido, pesquisas futuras devem ser realizadas, a fim de se obter mais achados significativos para a literatura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. D.; CLÁUDIA TORRES CODEÇO; LUZ, P. M. Seasonal dynamics of influenza in Brazil: the latitude effect. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, 1 dez. 2018.
- ALVARES, P. A. SARS-CoV-2 and Respiratory Syncytial Virus Coinfection in Hospitalized Pediatric Patients. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 40, n. 4, p. e164–e166, 12 jan. 2021.
- BAKER, M. G.; PECKHAM, T. K.; SEIXAS, N. S. Estimating the burden of United States workers exposed to infection or disease: A key factor in containing risk of COVID-19 infection. **PLoS ONE**, v. 15, n. 4, 1 abr. 2020.
- BARRETO, M. L.; PINTO JUNIOR, E. P.; ARAGÃO, E. **Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais**. Salvador: Edufba, v. 1, 2020.
- BEN SHIMOL, A. et al. Can laboratory evaluation differentiate between coronavirus disease-2019, influenza, and respiratory syncytial virus infections? A retrospective cohort study. **Croatian Medical Journal**, dez. 2021.
- BENNETT, J.E.; DOLIN, R.; BLASER, M.J. Mandell, Douglas, and Bennett's. **Principles and practice of infectious diseases**. [S. l.]: Elsevier, 2015.
- BIANCHI, F. P. et al. Compliance with immunization and a biological risk assessment of health care workers as part of an occupational health surveillance program: The experience of a university hospital in southern Italy. **American journal of infection control**, v. 48, n. 4, p. 368-374, 2020.
- BIGGERSTAFF, M.; CAUCHEMEZ, S.; REED, C.; GAMBHIR, M.; FINELLI, L. Estimates of the reproduction number for seasonal, pandemic, and zoonotic influenza: a systematic review of the literature. **BMC Infectious Diseases**. [S. l.]: Springer Science and Business Media LLC, 4 set. 2014.
- BONCRISTIANI, H. F.; CRIADO, M. F.; ARRUDA, E. Respiratory Viruses. **Encyclopedia of Microbiology**, p. 500–518, 1 jan. 2009.
- BORCHERS, A. T. et al. Respiratory Syncytial Virus—A Comprehensive Review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, v. 45, n. 3, p. 331–379, 12 abr. 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Nota técnica conjunta nº 05/2015 - CGSCAM/DAPES/SAS/MS, CGAFME/DAF/SCTIE/MS e CGDT/DEVIT/SVS/MS**. Estabelecer a sazonalidade do vírus sincicial respiratório no Brasil e oferecer esclarecimentos referentes ao protocolo de uso do palivizumabe. Brasília: Ministério da Saúde; 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim epidemiológico especial 52**. Doença pelo novo coronavírus COVID-19. 2021 Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/covid-19/2021/boletim\\_epidemiologico\\_covid\\_52\\_final2.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/covid-19/2021/boletim_epidemiologico_covid_52_final2.pdf).
- BRASIL. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Boletim epidemiológico nº 1**. Monitoramento da Síndrome Gripal e Síndrome Respiratória Aguda Grave no Distrito Federal até a Semana Epidemiológica 10 de 2022. 2022 Disponível em: <https://www.saude.df.gov.br/documents/37101/838379/BOLETIM-2022.pdf>.

BYRD-LEOTIS, L.; CUMMINGS, R. D.; STEINHAEUER, D. A. The Interplay between the Host Receptor and Influenza Virus Hemagglutinin and Neuraminidase. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 7, p. 1541, 17 jul. 2017.

CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **Respiratory Syncytial Virus Infection (RSV)**. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/rsv/index.html>.

CHERRY, J. D. The Role of Face Protection for Respiratory Viral Infections: A Historical Perspective. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 9, n. 4, p. 411–412, 17 set. 2020.

CHUNG, H.Y. et al. Novel dual multiplex real-time RT-PCR assays for the rapid detection of SARS-CoV-2, influenza A/B, and respiratory syncytial virus using the BD MAX open system. **Emerging Microbes & Infections**, v. 10, n. 1, p. 161–166, 1 jan. 2021.

CONG, B. et al. The role of respiratory co-infection with influenza or respiratory syncytial virus in the clinical severity of COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. **Journal of global health**, v. 12, 17 set. 2022.

DI MATTIA, G. et al. During the COVID-19 pandemic where has respiratory syncytial virus gone? **Pediatric Pulmonology**, v. 56, p. 3106, 2021.

FAÍCO-FILHO, K.S., Carvalho JMA, Conte DD, et al. COVID-19 in health care workers in a university hospital during the quarantine in São Paulo City. **Braz J Infect Dis**, v. 24, n. 5, p. 462-465, 10 set. 2020.

GORBALENYA, A. E. et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nature Microbiology**, [London], v. 5, n. 4, p. 536-544, 2020.

GRÄF, T. Diversidade dos coronavírus, origem e evolução do SARS-COV-2. In: BARRAL-NETTO, M.; BARRETO, M. L.; PINTO JUNIOR, E. P.; ARAGÃO, E. (org.). **Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais**. Salvador: Edufba, v. 1, 2020.

HAIGH, K. Z.; GANDHI, M. COVID-19 mitigation with appropriate safety measures in an essential workplace: Lessons for opening work settings in the U.S. during COVID-19. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 8, n. 4, 22 fev. 2021.

HUANG, H.-S. et al. Multiplex PCR system for the rapid diagnosis of respiratory virus infection: systematic review and meta-analysis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 24, n. 10, p. 1055–1063, out. 2018.

JAVANIAN, M. et al. A brief review of influenza virus infection. **Journal of Medical Virology** John Wiley and Sons Inc, 1 ago. 2021.

JEONG, S. et al. Advances in laboratory assays for detecting human metapneumovirus. **Annals of Translational Medicine**, v. 8, n. 9, p. 608, 1 mai. 2020.

KADAM, S. B. et al. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. **Journal of Basic Microbiology**, v. 61, n. 3, p. 180–202, 18 jan. 2021.

KAROLINA, A. et al. Low circulation of Influenza A and coinfection with SARS-CoV-2 among other respiratory viruses during the COVID-19 pandemic in a region of southern Brazil. **J Med Virol**, v. 93, p. 4392–4398, 2021.

KRAMMER, F. et al. Influenza. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, 28 jun. 2018.



- LI, Y. et al. Co-infections of SARS-CoV-2 with multiple common respiratory pathogens in infected children. **Medicine**, v. 100, n. 11, p. e24315, 19 mar. 2021.
- LI, Y.-D. et al. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. **Journal of Biomedical Science**, v. 27, n. 1, dez. 2020.
- MEJIAS, ASUNCION et al. The journey to a respiratory syncytial virus vaccine. **American College of Allergy, Asthma, & Immunology**, v. 125, n. 1, p. 36-46, 2020.
- MESQUITA, F. S. et al. Rapid antigen detection test for respiratory syncytial virus diagnosis as a diagnostic tool. **Jornal de Pediatria**, v. 93, n. 3, p. 246–252, 1 mai. 2017.
- MORENS, D. M.; TAUBENBERGER, J. K.; FAUCI, A. S. Rethinking next-generation vaccines for coronaviruses, influenzaviruses, and other respiratory viruses. **Cell Host & Microbe**, v. 31, n. 1, p. 146–157, 11 jan. 2023.
- MOURA, E. C. et al. Covid-19: evolução temporal e imunização nas três ondas epidemiológicas, Brasil, 2020–2022. **Revista de Saúde Pública**, v. 56, p. 105, 18 nov. 2022.
- NÓBREGA, W. F. S. et al. As mudanças no processo de trabalho dos Agentes Voluntários de Saúde no Brasil durante a pandemia da COVID-19. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 21, n. 1, p. 79–84, 5 mai. 2022.
- OLSEN, S. J. et al. Changes in Influenza and Other Respiratory Virus Activity During the COVID-19 Pandemic - United States, 2020-2021. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 70, n. 29, p. 1013–1019, 23 jul. 2021.
- PAULES, C.; SUBBARAO, K. Influenza. **Lancet** (London, England), v. 390, n. 10095, p. 697–708, 2017.
- RAINA MACINTYRE, C. et al. Viral and bacterial upper respiratory tract infection in hospital health care workers over time and association with symptoms. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, 9 ago. 2017.
- SHI, X. et al. Influenza vaccination coverage among health-care workers during the COVID-19 epidemic in 2020/2021 influenza season: Evidence from a web-based survey in northwestern China. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 18, n. 6, 3 ago. 2022.
- SONI, A.; KABRA, S. K.; RAKESH LODHA. Respiratory Syncytial Virus Infection: An Update. **Indian Journal of Pediatrics**, 16 jun. 2023.
- TE VELTHUIS, A. J. W.; FODOR, E. Influenza virus RNA polymerase: insights into the mechanisms of viral RNA synthesis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 8, p. 479–493, 11 jul. 2016.
- SHI, T. et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. **The Lancet**, v. 390, n. 10098, p. 946–958, 2 set. 2017.
- WANG, M.-Y. et al. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, n. 587269, 25 nov. 2020.
- WHO. Archived: **WHO Timeline-COVID-19**. World Health Organization. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/detail/27-04-2020-who-timeline-covid-19>.

WHO. Archived: **WHO COVID-19 Dashboard**. World Health Organization. 2020.  
Disponível em: <https://covid19.who.int/>

YOUSSEF, D. et al. Vaccination against influenza among Lebanese health care workers in the era of coronavirus disease 2019. **BMC Public Health**, v. 22, n. 1, 18 jan. 2022.

ZHANG, C. et al. Clinical and epidemiological characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infections in China: A multicenter case series. **PLOS Medicine**, v. 17, n. 6, p. e1003130, 16 jun. 2020.

ZHOU, P. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270–273, 3 fev. 2020.

ZHU, N. et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 8, 24 jan. 2020