

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
IMUNOLOGIA E DOENÇAS INFECTO-PARASITÁRIAS**

Camila Alves do Couto

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E FINGERPRINTING DA MICROBIOTA DO
TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE
INDIVÍDUOS COMUNITÁRIOS OU HOSPITALIZADOS COM COVID-19 E
PACIENTES COMUNITÁRIOS COM SRAG POR OUTRAS ETIOLOGIAS**

**Juiz de Fora-MG
2023**

Camila Alves do Couto

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E FINGERPRINTING DA MICROBIOTA DO TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE INDIVÍDUOS COMUNITÁRIOS OU HOSPITALIZADOS COM COVID-19 E PACIENTES COMUNITÁRIOS COM SRAG POR OUTRAS ETIOLOGIAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas. Área de concentração: Imunologia e Doenças Infecto-Parasitárias.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz
Coorientadora: Prof^ª.Dr^ª. Vânia Lúcia da Silva
Coorientadora: Prof^ª.Dr^ª. Vanessa Cordeiro Dias

**Juiz de Fora-MG
2023**

DESENVOLVIMENTO

Centro de Estudos em Microbiologia do Instituto de Ciências
Biológicas- CEMIC-ICB

Departamento de Parasitologia, Microbiologia e
Imunologia

Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Juiz de Fora-
ICB-UFJF

COLABORAÇÃO

Prof.Dr. Aripuanã Sakurada Watanabe
Instituto de Ciências Biológicas , Universidade Federal de Juiz de Fora -
ICB-UFJF

Prof^ª.Dr^ª. Ângela Mello Coelho
Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora- ICE-
UFJF

APOIO FINANCEIRO

FAPEMIG: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Alves do Couto, Camila .

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E FINGERPRINTING DA MICROBIOTA DO TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE INDIVÍDUOS COMUNITÁRIOS OU HOSPITALIZADOS COM COVID-19 E INDIVÍDUOS COMUNITÁRIOS COM SRAG POR OUTRAS ETIOLOGIAS. /

Camila Alves do Couto. -- 2023.

107 p.

Orientador: Dr. Cláudio Galuppo Diniz

Coorientadoras: Dra. Vânia Lúcia da Silva, Dra. Vanessa

Cordeiro Dias

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Imunologia e Genética, 2023.

1. Covid-19. 2. Microbiota do Trato Respiratório Superior . 3. Infecções Respiratórias Virais . 4. Fingerprinting. 5. rep-PCR. I. Galuppo Diniz , Dr. Cláudio, orient. II. da Silva, Dra. Vânia Lúcia , coorient. III. Cordeiro Dias, Dra. Vanessa , coorient. IV. Título.

Camila Alves Couto

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E *FINGERPRINTING* DA MICROBIOTA DO TRATO
RESPIRATÓRIO SUPERIOR: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE INDIVÍDUOS
COMUNITÁRIOS OU HOSPITALIZADOS COM COVID-19 E PACIENTES COMUNITÁRIOS
COM SRAG POR OUTRAS ETIOLOGIAS**

**Dissertação
apresentada ao
Programa de Pós-
graduação em
Ciências Biológicas
da Universidade
Federal de Juiz de
Fora como requisito
parcial à obtenção do
título de Mestre em
Ciências Biológicas.
Área de
concentração:
Imunologia &
Doenças
Infectoparasitárias.**

Aprovada em 31 de outubro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

**Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora**

**Prof^a. Dr^a. Vânia Lúcia da Silva - Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora**

**Prof^a. Dr^a. Vanessa Cordeiro Dias - Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora**

Prof. Dr. Aripuanã Sakurada Aranha Watanabe
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^ª. Dr^ª. Luciana Debortoli de Carvalho
Universidade Estadual de Santa Cruz

Juiz de Fora, 16/10/2023.



Documento assinado eletronicamente por Claudio Galuppo Diniz, Professor(a), em 31/10/2023, às 15:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Vanessa Cordeiro Dias, Professor(a), em 31/10/2023, às 15:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Aripuana Sakurada Aranha Watanabe, Professor(a), em 31/10/2023, às 15:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Luciana Debortoli de carvalho, Usuário Externo, em 31/10/2023, às 15:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Vania Lucia da Silva, Professor(a), em 31/10/2023, às 15:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador 1526976 e o código CRC 2E94C281.

Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.

Carl Jung

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pois foi ele que me sustentou nos dias mais difíceis. Iniciei a pós-graduação e após poucos meses iniciou-se a pandemia, e diante de toda incerteza, medo e distância da família foi com os amigos e colegas que fiz na UFJF, que pude vivenciar os poucos momentos de leveza diante de tudo que estava acontecendo.

A gente nunca sabe o peso que tem na vida das pessoas, e como nossas atitudes impactam na vida delas, quando só o que vemos ou percebemos em relação ao outro, são sempre a ponta do *iceberg* de muitos dramas pessoais e questões que muitas vezes não compreendemos ou não temos conhecimento. No meu caminho, felizmente conheci pessoas que mudaram quem sou em muitos níveis, pessoas que me desafiaram a crescer profissionalmente seja como Bióloga ou como pessoa.

Nesses quase 3 anos de pós, além dos amigos a minha família foi a minha fonte de fortaleza e aconchego, foi com eles, através de inúmeras e longas chamadas de vídeo que muitas vezes chorei, sorri e matei a saudade aliviando um pouco o peso de tudo. Começo agradecendo a meu pai Valter Couto que foi e é minha fonte de resistência, a pessoa que mais me incentivou me dando todo o suporte que precisei ao longo desses anos. Nos meus piores momentos encontrei força ao ouvir de você: “Vamos vencer isto” ou “isso é só uma chuva, e vai passar...” ou ainda, “você é uma Couto ou não é?” rs. Sou grata a ti meu Pai, por seus cuidados, conselhos e investimento em mim, a minha Mãe Dilma por ter me ajudado e investido na minha educação.

A minha irmã Carolina e a minha avó “maravideusa” dona Arlete, que me acalmou em muitos momentos com seus conselhos e sua fé em dias melhores. Ao meu saudoso Ernani, meu “paidrasto”, hoje uma estrela no céu da saudade, pessoa ímpar que a vida nos apresentou, e foi um dos responsáveis e maior apoiador na minha busca por conhecimento. Agradeço a minha amiga e irmã querida Camila Rocha, amizade que começou na entrevista de mestrado da forma mais inusitada possível, e depois disso, não nos desgradamos, e sua casa foi a minha referência de família em Minas Gerais e eu tive a sorte de conhecer sua mãe a minha “advogada” dona Eny, ao qual sou grata por ter me acolhido e me apoiado nos momentos mais difíceis, além de ter me propiciado momentos em família que me faziam tanta falta.

Aos meus felinos fiéis Nina, Shakity e Dihrain que foram as minhas companhias alegrando a minha casa e meus dias. As minhas parceiras de projeto, futuras Doutoradas Katia Watanabe e Beatriz Macedo por seus valiosos ensinamentos, hoje tudo que penso, faço e sou em um laboratório tem um pouco de vocês sou grata por esse encontro. A minha grande amiga

Regiane Faia e parceira de experimento, uma amizade que foi para além dos muros da UFJF, gratidão pela parceria e amizade. Ao professor Dr. Ari que me ensinou tudo que sei sobre biologia molecular gratidão pelos seus ensinamentos. Agradeço também ao meu orientador Dr. Cláudio Galuppo pelos ensinamentos, pela paciência e confiança. As minhas coorientadoras Dra. Vânia Lúcia da Silva e Dra. Vanessa Cordeiro Dias gratidão pelos seus valiosos ensinamentos ao longo da pós-graduação sobretudo, durante a parte experimental, momento em que mais fui desafiada e que mais obtive aprendizado. Agradeço ainda a Dr^a Ângela, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juiz de Fora, por todo aprendizado, pela paciência e disponibilidade.

A todos demais companheiros de laboratório, por toda ajuda e convívio harmonioso ao longo desses anos. A Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, e fontes financiadoras pelo suporte físico e financeiro, que tornou possível a realização desse trabalho.

E por fim, termino esse ciclo ciente que percorri um longo caminho. Caminho este, muitas vezes pesado com incertezas e medos, outras vezes florido de vivências únicas com muitas camadas de significado. E o que ficou além do conhecimento, foi o melhor das pessoas que cruzaram meu caminho, pessoas que sem dúvida fizeram diferença na minha vida e me incentivaram a ser e buscar o melhor. Agradeço a Deus, aos meus antepassados, ao universo por essa experiência única e a mim por não ter sucumbido aos dias mais desafiadores.

GRATIDÃO...

RESUMO

A pandemia da COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, teve um impacto global significativo, com mais de 761 milhões de infecções e 6,7 milhões de mortes em todo o mundo. No Brasil, a crise sanitária e hospitalar resultou no maior colapso da história do país. Isso afetou a prevalência de outros vírus respiratórios, mas um grupo diversificado de vírus, como rinovírus, adenovírus, parainfluenza, metapneumovírus e influenza, ainda causam um grande número de doenças respiratórias. Eles continuam a ser uma das principais causas de infecções respiratórias agudas, não relacionadas à COVID-19. O diagnóstico de infecções respiratórias virais pode ser baseado em sintomas clínicos ou no agente etiológico. O conhecimento sobre o microbioma respiratório é uma área de crescente interesse na medicina pulmonar, pois sua diversidade e equilíbrio têm impacto direto na saúde e na doença. Fatores como tipo de nascimento, idade, sexo, condições genéticas, comportamento social e dieta desempenham um papel importante na composição da microbiota. A resposta imune à infecção é afetada por diversos fatores, incluindo condições biológicas intrínsecas e extrínsecas do hospedeiro. Estudos mostram diferenças significativas entre os sexos na resposta imune, com as mulheres geralmente apresentando respostas mais fortes, desenvolvendo respostas vacinais mais robustas e sobrevivendo melhor a infecções agudas. Este estudo analisou a estrutura da microbiota de amostras respiratórias de pacientes hospitalizados devido à COVID-19, pacientes com síndrome gripal de outras causas e a influência de características sociodemográficas e clínicas. A amostra incluiu 118 indivíduos de ambos os sexos e diferentes idades. Os resultados revelaram que o grupo de pacientes com COVID-19 hospitalizados (G3) tinha o menor percentual de vacinação contra a gripe e mais comorbidades, enquanto o grupo com síndrome gripal de outras etiologias (G1) e o grupo com COVID-19 comunitário (G2) tinham melhores taxas de imunização. G1 apresentou o maior número de indivíduos saudáveis. Os sintomas variaram, com G1 predominantemente apresentando sintomas respiratórios, enquanto G2 e G3 tinham sintomas respiratórios e não respiratórios, com G2 sendo mais afetado. Os resultados do *fingerprint* agruparam os pacientes em dois *clusters*: C1, composto em sua maioria por indivíduos hospitalizados, idosos e menos imunizados; e C2, que incluiu indivíduos jovens com e sem COVID-19, mais imunizados. Em suma, esse estudo destacou a importância de considerar não apenas o SARS-CoV-2, mas outros vírus respiratórios no diagnóstico e tratamento de infecções respiratórias. Além disso, mostrou como o microbioma respiratório e fatores sociodemográficos e clínicos influenciam na resposta imune e na gravidade das infecções. Essas descobertas podem fomentar estratégias mais eficazes de prevenção e tratamento de doenças respiratórias, mas é fundamental realizar mais pesquisas para aprofundar o entendimento desses mecanismos e aprimorar o manejo clínico dessas doenças.

Palavras-chave: *Fingerprinting*. Epidemiologia. Microbiota. Trato respiratório superior. Infecções respiratórias virais. rep-PCR. COVID-19.

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic, caused by the SARS-CoV-2 virus, has had a significant global impact, with more than 761 million infections and 6.7 million deaths worldwide. In Brazil, the health and hospital crisis resulted in the biggest collapse in the country's history. This has affected the prevalence of other respiratory viruses, but a diverse group of viruses, such as rhinoviruses, adenoviruses, parainfluenza, metapneumoviruses, and influenza, still cause a large number of respiratory illnesses. They continue to be a leading cause of acute respiratory infections, not related to COVID-19. The diagnosis of viral respiratory infections can be based on clinical symptoms or the etiological agent. Knowledge about the respiratory microbiome is an area of growing interest in pulmonary medicine, as its diversity and balance have a direct impact on health and disease. Factors such as type of birth, age, sex, genetic conditions, social behavior and diet play an important role in the composition of the microbiota. The immune response to infection is affected by several factors, including intrinsic and extrinsic biological conditions of the host. Studies show significant sex differences in immune response, with women generally having stronger responses, developing more robust vaccine responses, and surviving acute infections better. This study analyzed the structure of the microbiota of respiratory samples from patients hospitalized due to COVID-19, patients with flu syndrome from other causes and the influence of sociodemographic and clinical characteristics. The sample included 118 individuals of both sexes and different ages. The results revealed that the group of hospitalized COVID-19 patients (G3) had the lowest percentage of flu vaccination and more comorbidities, while the group with flu syndrome of other etiologies (G1) and the group with community COVID-19 (G2) had better immunization rates. G1 had the largest number of healthy individuals. Symptoms varied, with G1 predominantly having respiratory symptoms, while G2 and G3 had both respiratory and non-respiratory symptoms, with G2 being more affected. The fingerprint results grouped the patients into two clusters: C1, mostly composed of hospitalized, elderly and less immunized individuals; and C2, which included young individuals with and without COVID-19, who were more immunized. In summary, this study highlighted the importance of considering not only SARS-CoV-2 but other respiratory viruses in the diagnosis and treatment of respiratory infections. Furthermore, it showed how the respiratory microbiome and sociodemographic and clinical factors influence the immune response and the severity of infections. These discoveries can promote more effective strategies for preventing and treating respiratory diseases, but it is essential to carry out more research to deepen the understanding of these mechanisms and improve the clinical management of these diseases.

Keywords: Fingerprinting. Epidemiology. Microbiota. Upper respiratory tract. Viral respiratory infections. rep-PCR. Covid-19.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Diagrama do trato respiratório inferior e superior e seus respectivos patógenos.	23
Fluxograma - Fluxograma de seleção dos participantes do estudo.....	40
Gráfico 1- Representação da ocorrência comorbidades por participante	47
Figura 2 - Composição microbiana em indivíduos saudáveis e com infecções respiratórias pelo SARS-CoV-2	28
Gráfico 2 - Representação da ocorrência de sintomas clínicos em indivíduos com COVID-19 e síndrome gripal por outras etiologias... ..	48
Figura 3- <i>Biplot</i> de análise multivariada (a, b e c) referentes a associação entre os grupos e as variáveis significantes.....	44
Figura 4 - Agrupamento e matriz de similaridade (a, b) dos indivíduos participantes do estudo (G1, G2 e G3) de acordo com o perfil de bandejamento correspondente à região GTG'5... ..	46
Figura 5- <i>Fingerprint</i> obtido após amplificação de fragmentos do genoma bacteriano por rep-PCR a partir do DNA metagenômico extraído das amostras de orofaringe e nasofaringe dos pacientes entre os três grupos.....	47
Figura 6 - ANEXO A – Modelo de ficha clínica.....	84
Figura 7- ANEXO B- Parecer consubstanciado do comitê de ética e pesquisa – UFJF	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Aspectos sociodemográficos e clínicos observados em indivíduos com síndrome gripal por outras etiologias e com Covid-19.....	44
Tabela 2 - Média de idade x Sexo por grupo de trabalho	45
Tabela 3 - ANEXO C- Matriz base para análise multivariada	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2 - Proteína transmembrana expressa na superfície de diversas células do corpo
ACM – Análise de correspondência múltipla
ATP - adenosina trifosfato
BIPLOT - Gráfico de uma matriz que permite o exame visual de dados multidimensionais
CDC - Centros de Controle e Prevenção de Doenças
CO₂ - Gás Carbônico
DPOC – Doença Pulmonar obstrutiva Crônica
ECA-2 - Enzima conversora de angiotensina 2
ERES - Elementos de resposta aos androgênios e estrogênios
FDA - *Food and Drug Administration*
G1 - Grupo de trabalho 1
G2- Grupo de trabalho 2
G3 - Grupo de Trabalho 3
GISAID - Iniciativa Global para o Compartilhamento de Todos os Dados sobre Influenza.
HADV – Adenovírus humano
IFN - Interferons (IFNalfa e IFNbeta)
IL - Interleucina
IMC- Índice de massa corporal
IRA- Infecção respiratória aguda
ITR – Infecções do trato respiratório superior
ITRS – Infecção do trato respiratório superior
IVRI – Infecções das vias aéreas superiores
MDA5 - *Melanoma differentiation-associated protein 5*
MHC - Complexo principal de histocompatibilidade
MPVH - Virus metapneumovirus humano
NK – *Natural Killer*
NLR - The neutrophil-to-lymphocyte ratio
O₂ - Oxigênio
OMS – Organização Mundial de Saúde
PCR - *Polymerase Chain Reaction*
PH - Potencial Hidrogeniônico
PIV – Parainfluenza humano
PRRS - Receptores de Reconhecimento de Padrões
RBD - *Receptor Binding Domain*
REP - Repetitive extragenic palindromic
rep-PCR- Repetitive sequence-based PCR
RIG-I - *Retinoic acid-inducible gene I*
RSV – Virus Sincial respiratório
RVH - Rinovírus humano
S1 – Subunidade 1
S2 - Subunidade 1
SG – Síndrome Gripal
SRAG - Síndrome respiratória aguda grave
TCD - Molécula encontrada na superfície das células T (TCD3, TCD4 e TCD8)
TH1 - Defesa contra protozoários, bactérias intracelulares e vírus
TOLL-LIKE - *Toll-like receptors*
TRS – Trato respiratório Superior

UTI – Unidade de terapia intensiva
VMI - ventilação mecânica invasiva
VOC – variantes de preocupação
VOI - variantes de interesse
VPHS – Virus parainfluenza humano
VUM – Variantes sob monitoramento
WHO - *World Health Organization*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Doenças infecciosas e emergentes	17
2.2 Origem, história e epidemiologia da COVID-19.....	18
2.3 Infecções respiratórias por outras etiologias	22
2.4 Microbiota e a saúde respiratória.....	28
2.5 Mecanismos de resposta imune do hospedeiro frente às infecções respiratórias virais.....	32
3. OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo Geral.....	37
3.2 Objetivos Específicos	37
4. MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Descrição epidemiológica da infecção pelo SARSCoV2 em Minas Gerais.....	38
4.2 Indicadores epidemiológicos e geográficos de Juiz de Fora -MG.....	38
4.3 Seleção dos participantes do estudo	39
4.4 Coleta de dados e variáveis de estudo	41
4.5 Extração de DNA a partir de espécimes respiratórios	41
4.6 Avaliação da estrutura da comunidade microbiana.....	42
4.7 Análises Estatísticas.....	43
5. RESULTADOS	43
5.1 Características sociodemográfico e clínicas	43
5.2 Análise de correspondência múltipla das variáveis sociodemográficas e clínicas	49
5.3 Avaliação Comparativa Da Similaridade Da Estrutura Global Da Comunidade Bacteriana Por rep-PCR.....	51
6. DISCUSSÃO	48
7. CONCLUSÕES	61
8. REFERÊNCIAS	62
ANEXOS A – Modelo de ficha clinica	87
ANEXO B- Parecer consubstanciado do comitê de ética e pesquisa - UFJF	85
ANEXO C- TABELA -3 - Matriz base para análise multivariada.....	90

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O sistema respiratório é dividido em trato superior e inferior, onde a porção superior, também chamada de porção condutora, é composta pelo nariz, faringe, laringe e traqueia e a porção inferior, também chamada de porção respiratória, começa a partir da região inferior da traqueia, e se expande entre brônquios, bronquíolos e pulmões.

O trato respiratório superior é considerado os protetores da saúde respiratória e tem capacidade de prevenir a colonização e invasão por patógenos respiratórios, patógenos estes responsáveis pelas infecções do trato respiratório superior (ITRS). É na nasofaringe que se estabelece do vírus SARS-CoV-2, que vem causando a pandemia da COVID-19. As infecções causadas por esse vírus podem causar disfunção da barreira epitelial aumentando as respostas inflamatórias e o desequilíbrio da microbiota do trato respiratório, o que pode piorar os processos patogênicos. De acordo a organização mundial de saúde (OMS), as infecções respiratórias continuam sendo uma das principais causas de morbimortalidade em todo o mundo, apesar do surgimento de antimicrobianos, perdendo apenas para as doenças como a doença pulmonar obstrutiva crônica(DPOC) e doenças cardiovasculares.

Habitado por uma gama diversificada de microrganismos, o trato respiratório superior (TRS), contribui com papéis benéficos na proteção da superfície da mucosa contra os agentes patogênicos. No entanto, a composição da microbiota pode ser modificada com a entrada de vírus respiratórios patogênicos, resultando numa maior suscetibilidade a infecções e doenças respiratórias. Estudos apontam que os vírus tendem a modular a comunidade microbiana dos tratos superiores e inferiores, no entanto, poucos estudos examinaram a microbiota nasofaríngea em pacientes com COVID-19.

As doenças ou infecções respiratórias, ocorrem tanto no trato respiratório superior como inferior, nas quais há a obstrução da passagem do ar, tanto a nível nasal quanto a nível bronquiolar e pulmonar. As infecções podem variar de agudas, como pneumonias e resfriados comuns, a infecções mais graves como síndromes respiratórias agudas graves (SRAGs). Ainda que as infecções das vias áreas superiores sejam muito frequentes, mas raramente com risco a vida, as infecções das vias respiratórias inferiores (IVRI) são responsáveis por doenças mais graves, que cursam com quadros clínicos que conduzem para uma alta taxa de mortalidade por infecções respiratórias agudas (IRAs).

As infecções respiratórias virais são responsáveis por uma grande porcentagem de consultas médicas ambulatoriais, pela utilização dos serviços de emergência e por

hospitalizações. Diante disso, o conhecimento do perfil das doenças causadas pelos diversos agentes virais responsáveis pelas infecções respiratórias agudas poderia permitir a diferenciação destas das infecções bacterianas, evitando muitas vezes, a prescrição desnecessária de antimicrobianos, tendo em vista que maior parte dos antimicrobianos prescritos para adultos na prática médica ambulatorial é para infecções respiratórias. O pronto reconhecimento da síndrome viral permite o uso de estratégia clínica rápida e assertiva que orienta o manejo dessa situação clínica, evitando o uso indevido dessas medicações para as infecções respiratórias o que contribui para o incremento da resistência bacteriana aos antibióticos.

Os agentes virais presentes no trato respiratório superior são rinovírus, coronavírus humano, adenovírus, vírus parainfluenza, metapneumovírus e influenza humano. As características radiológicas e clínicas das infecções virais respiratórias são diversas e frequentemente inespecíficas, sobrepondo-se com as de infecções não virais e condições inflamatórias, o que dificulta o diagnóstico. Com isso nem todos os casos apresentam estes padrões radiológicos típicos e, normalmente, não é possível chegar a um diagnóstico etiológico somente com exames de imagem.

O peso global das infecções respiratórias virais não relacionadas com a COVID-19 é substancial em todos os grupos etários. Para lidar com o desafio da sua prevenção e tratamento, é importante reconhecer as suas síndromes clínicas e o comportamento específico dos agentes virais. Relativamente ao seu diagnóstico, os métodos emergentes de detecção molecular têm substituído progressivamente os testes de diagnóstico convencionais, fornecendo resultados mais rápidos e fidedignos.

Em infecções virais respiratórias como a da COVID-19, os resultados clínicos graves e fatais são associados à presença de comorbidades já conhecidas por apresentarem uma microbiota alterada por exemplo, diabetes tipo II, obesidade, extrema idade, e doenças cardíacas. Além disso, numa vasta gama de doenças associadas à microbiota humana, onde o desequilíbrio causado a essas comunidades, podem ter impacto negativo na progressão e evolução da doença. O conhecimento sobre como a composição da microbiota respiratória pode modular o sistema imunológico e fornecer a resistência à colonização, limitando o sobre crescimento e infecções patogênicas consecutivas, é essencial para melhorar a prevenção e terapia de doenças respiratórias.

O estudo do papel da microbiota humana na COVID-19 é particularmente relevante, uma vez que a microbiota respiratória é conhecida por interagir com o sistema imunitário do hospedeiro, contribuindo para resultados clínicos desfavoráveis em casos crônicos e agudos de doenças respiratórias.

O *fingerprinting* é um método que pode ser utilizado para o estudo da microbiota, no qual fragmentos de DNA amplificados por PCR (*amplicons*) são separados de acordo com suas sequências de pares de bases. Tem sido amplamente empregado em estudos de microbiologia ambiental, microbiologia de alimentos e na análise de comunidades microbianas que habitam o corpo humano.

No âmbito dos estudos de interação entre patógenos e a microbiota essa pesquisa se justifica, com base no cenário da crise sanitária e humanitária global vivida entre 2020 á 2023, onde trabalhos que tenham como foco fomentar discussões sobre os padrões de interação vírus-hospedeiro e microbiota, podem não só contribuir futuramente para estabelecimento de melhores estratégias de acompanhamento, tratamento, profilaxia e prevenção não apenas da COVID-19, mas de outras doenças respiratórias.

Com isso, o presente trabalho visa analisar comparativamente a estrutura da microbiota de amostras oriundas de secreções nasofaríngeas e as características socio-epidemiológicas e clínicas entre os indivíduos com infecção respiratória comunitária e hospitalizados com SRAG devido à COVID-19 e os doentes com resfriado comum devido a outras etiologias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doenças infecciosas e emergentes

Na década de 1970, o número de doenças infecciosas no mundo desenvolvido foi substancialmente diminuído a partir de níveis históricos, em grande parte devido ao melhor saneamento e o desenvolvimento de vacinas eficazes e drogas antimicrobianas (Watsa et al.,2020). O surgimento de uma série de novas doenças nas décadas de 1970 e 1980, culminando com a disseminação global do HIV/AIDS, no entanto, levou ao aumento das doenças infecciosas nas agendas políticas da saúde (Banerjee et al.,2021). Atualmente, a maioria das doenças infecciosas emergentes são zoonóticas e a fauna silvestre constitui um grande reservatório. São considerados fatores determinantes para a emergência de doenças zoonóticas o aumento da população humana e outros fenômenos globais, como: as alterações ambientais, incluindo as mudanças climáticas e a perda da biodiversidade (Chomel; Belotto; Meslin, 2007). O termo zoonose é claramente definido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como "qualquer infecção que seja naturalmente transmissível de animais vertebrados para humanos". Isso é qualificado por afirmar que a infecção é mantida em uma população animal (um reservatório) e, portanto, uma fonte contínua da infecção humana (Who,2020).

Uma doença emergente pode ser descrita como uma nova infecção, podendo ocorrer por sua evolução, como, novo patógeno, hospedeiro, vetor, ou linhagem com alteração na sua patogenicidade. Doença reemergentes é classificada como uma doença já conhecida ou endêmica que muda sua localização geográfica, seu comportamento epidemiológico, ampliando sua gama de hospedeiros e aumentando sua prevalência, como dengue, febre- amarela e cólera. Estas doenças são tratadas em contexto global. Entender alguns dos fatores desencadeantes é essencial para conseguirmos desenvolver estratégias para prever e controlar o aparecimento destas enfermidades, que afetam a saúde pública, a saúde animal e o ecossistema, trazendo ainda prejuízos econômicos (Pereira,2021).

A maioria das doenças infecciosas emergentes têm origem nos animais silvestres. Podem ser citadas como exemplos a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (*Middle East Respiratory Syndrome*, MERS), HIV (primatas não humanos), Ebola (Morcegos) e as linhagens de influenza H5N1 e H1N1 (pássaros e porcos, respectivamente) (Watsa et al.,2020). A doença pandêmica COVID-19, causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, é a mais recente doença infecciosas emergente que aflige a humanidade e as evidências genéticas sugerem que os roedores são a fonte original de todos os Alfa e Betacoronavírus, incluindo o SARS-CoV-2 (Banerjee et al.,2021).

2.2 Origem, história e epidemiologia da COVID-19

O novo coronavírus, descoberto em dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, na China recebeu o nome de SARS CoV-2 (Sigla do inglês que significa coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave), cuja doença recebeu a denominação pela OMS de COVID-19. O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples envelopado pertencente à linhagem dos *Sarbecovirus* do gênero *Betacoronavirus*, família Coronavírus (NCoV) (Chen et al., 2022; Naqvi et al., 2020). O genoma viral é composto por aproximadamente 30.000 nucleotídeos (Lazarevic.,2021; LU et al., 2020), *open reading frame* (ORFs) e três proteínas de superfície (S, M e E) :proteína (s) de *spike* ou espícula, a pequena proteína do envelope (e), a proteína da membrana (M), mais a proteína nucleocapsídica (n) totalizando 4 proteínas. (Naqvi et al., 2020; Saltigerall; León, 2020). A proteína S é uma glicoproteína homo-trimérica que está localizada no envelope viral (WALLS et al., 2020) e é clivada por proteases semelhantes a furina, formando subunidades S1 e S2 (Hoffmann; Kleine-Weber, 2020). A subunidade S1 contém um domínio N-terminal e um domínio de ligação ao receptor que é responsável pela ligação do vírus a enzima de conversão da angiotensina 2 (ACE2) receptor na célula hospedeira alvo (Liu et al., 2020). A subunidade S2 realiza a fusão do envelope viral com a membrana da célula hospedeira (Huang; Wang, 2021; Liu et al., 2020; Saltigerall; León, 2020). A proteína E é necessária para a produção de virion e a proteína M está envolvida na montagem e na brotação do virion, enquanto a proteína N está associada à proteção do RNA viral dentro do virion (Huang; Wang, 2021; Saltigerall; León, 2020). Esta doença emergente é transmitida por pequenas gotículas, ou aerossóis, liberados de indivíduos infectados durante o contato de pessoa a pessoa (Salzberger et al.,2021).Após a infecção, os primeiros sintomas de infecção viral são apresentados entre 2 e 14 dias, com a frequência principal ocorrendo entre 3 e 7 dias (Zaki; Mohamed, 2021). Alguns sintomas COVID-19 também são apresentados em pacientes durante infecções pelo vírus da influenza, por exemplo, dor de cabeça, tosse seca, dor de garganta, coriza, congestão nasal, febre, mialgia, hipoxia, dispneia e, em alguns casos, diarreia (Liu et al., 2020; Naqvi et al., 2020).

As coinfeções de SARS-CoV-2 com outros vírus respiratórios e bactérias são bem descritas em pacientes com COVID-19 (Lin et al., 2020). Estudos alegaram que as coinfeções bacterianas são mais frequentemente encontradas no COVID-19 em comparação com outras infecções virais (Lansbury et al.,2020; Siordia, 2020). Particularmente na COVID-19, a capacidade respiratória de indivíduos infectados diminui rapidamente, levando ao desenvolvimento de pneumonia, lesão cardíaca, sepse e disfunção de vários órgãos (Naqvi et al., 2020; Salzberger et al.,2021). O curso da COVID-19 foi visto com comorbidades como obesidade, diabetes, asma grave, doenças respiratórias, doença cardíaca crônica, doença hepática, acidente vascular cerebral/demência, outras doenças neurológicas, função renal reduzida, doença autoimune e outras condições imunossupressoras (Williamson; Walker; Bhaskaran ,2020).

A obesidade é considerada um dos principais fatores de risco para uma maior gravidade da COVID-19. Uma série de análises de estudos retrospectivos sugerem uma elevada prevalência de obesidade em doentes com COVID-19 (Caussy; Pattou; Wallet, 2020; Simonnet; Chetboun; Poissy,2020).

Simonnet e colaboradores (2020), observaram elevado número de indivíduos obesos e com excesso de peso admitidos em cuidados intensivos, o que indica uma progressão mais grave da doença nestes grupos. O IMC médio dos pacientes que necessitam de ventilação mecânica invasiva (VMI) foi de 31,1kg/m², em comparação com 27,0 kg/m² para aqueles que não requerem esses tipos de cuidados (Simonnet, Chetboul, Poissy,2020). Um estudo realizado em Nova Iorque revelou que os indivíduos com obesidade tinham mais probabilidades de necessitar de tratamento médico, cuidados e admissão no setor de cuidados intensivos, especialmente as de idade inferior a 60 anos (Lighter; Phillips; Hochman, 2020). A obesidade não só parece estar associada a um pior prognóstico da COVID-19, como também foi considerada como um preditor significativo para a mortalidade (Pettit; Mackenzie; Ridgway, 2020).

No início da pandemia, houve ainda indicações de um aumento do risco de infecção pelo SARS-CoV-2 especificamente para pessoas com diabetes (Li; Yang; Zhao,2020). Um estudo observacional de 193 doentes com COVID-19 grave mostrou uma taxa de mortalidade aumentada de pacientes com diabetes em comparação com pacientes sem diabetes (81,3% vs. 47,6%, com uma taxa de mortalidade global de 56,0%) (Yan; Yang; Wang, 2020).

Outra observação feita por outro estudo retrospectivo com indivíduos chineses hospitalizados com COVID-19 indica um excesso de gravidade da doença em pessoas com

diabetes recém-diagnosticada, em comparação às pessoas com diabetes já conhecida, hiperglicemia e glicose normal (Li; Tian; Chen, 2020).

Semelhante às condições acima mencionadas, a hipertensão é geralmente relatada como uma das comorbidades subjacentes mais comuns da COVID-19 (Grassi, 2020; Guo; Li; Dong, 2020; Tadic; Cúspid) Isto se justifica em parte à forte associação da hipertensão com a idade mais avançada, bem como a outras comorbidades. Em um estudo observacional retrospectivo, os pacientes COVID-19 com hipertensão tiveram uma taxa de mortalidade mais elevada (24,8% vs. 15,2%), uma proporção mais elevada de pacientes graves (63,7% vs. 42,1%), uma proporção mais elevada de pacientes que recebem ventilação mecânica não invasiva (16,8% vs. 7,6%), e uma maior proporção de pacientes transferidos para a unidade de terapia intensiva (23,9% vs. 12,2%) (Huang; Wang; Liu, 2020).

De acordo com os fatores de risco acima mencionados, as doenças cardiovasculares, tal como a doença coronária cardíaca, infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca estão associadas a uma maior gravidade da COVID-19 (Aggarwal; Cheruiyot; Aggarwal, 2020; Li; Yang; Zhao, 2020; Guo ; Fan ; Chen, 2020;). Semelhante a obesidade, diabetes e hipertensão, muitos estudos e relatórios mostraram aumento das taxas de mortalidade em pacientes com doenças cardiovasculares pré-existentes infectados com a COVID-19 (Aggarwal; Cheruiyot; Aggarwal, 2020).

Curiosamente, os pacientes infectados com o SARS -CoV-2 que sofrem de doenças cardíacas, incluindo disfunção sistólica e diastólica (Chen; Zheng ; Zhang, 2020), arritmias entre outros (Mahase, 2020) são os mais afetados pela COVID-19 e mais predispostos a agravos do quadro clínico. A patogênese da lesão miocárdica aguda relacionada à infecção pelo SARS-CoV-2 ocorre com a expressão da ECA-2 observada nos miócitos cardíacos, nas células do sistema respiratório e de outros órgãos. A proteína *spike* do SARS-CoV-2 liga-se à ACE2 nas células hospedeiras, causando danos no miocárdio e com desregulação da ACE2, inicia-se uma cascata inflamatória, fibrose intersticial do miocárdio e desestabilização da placa coronária (Naeem et al., 2023)

A rápida disseminação do SARS-CoV-2 nos países ao redor do mundo foi atribuída ao contato pessoa a pessoa e à falha na promoção do uso de máscaras faciais ou implementação de medidas sanitárias, mas também devido ao acesso limitado a vacinas contra SARS-Cov-2 (Lana et al., 2020). Além disso, o surgimento de novas variantes virais de SARS-CoV-2 reduziu a eficiência em 28,2 vezes de vacinas novas e licenciadas para combater o COVID-19. Como resultado dessas variantes, tratamentos médicos que envolvem anticorpos monoclonais também

foram comprometidos. A alta taxa de replicação viral, disseminação e prevalência está associada ao surgimento de novas variantes virais, porque essas propriedades estão associadas à aquisição de mutações em seu genoma. Os eventos de mutagênese, particularmente na subunidade S1 da proteína *spike*, podem aumentar sua patogenicidade, infectividade e disseminação, aumentar a eficiência da transmissão viral, tropismo celular e patogenicidade e escapar do reconhecimento imune (Martínez-Anaya; Ramos-Cervantes; Vidaltamayo, 2020; Padhi; Tripathi, 2020; Volz Et Al.,2020).

A alta taxa de mutação torna necessário uma classificação do genoma viral em linhagens, grupos ou clados. A OMS propõe uma classificação viral através do uso do alfabeto grego (Who,2022). Outros sistemas de nomenclatura comuns incluíram os recomendados pelo GISAID, Pango e Nextstrain (Hadfield et al., 2018; Rambaut et al.,2020). Para identificar variantes que apresentam maior risco à saúde, a OMS descreve dois tipos principais de variantes virais: variantes de preocupação (VOC.s do inglês, *variants of concern*) e variantes de interesse (VOIs - do inglês, *variants of interest*) e variantes em monitoramento (VUMs - do inglês, *variant under monitoring*). Assim, alfa, beta, gama, delta e omicron são definidos como VOC, por outro lado, as variantes lambda e zeta são classificadas como VOIs.

No Brasil inicialmente a pandemia foi impulsionada principalmente pelas linhagens B.1.1.28 e B.1.1.33, que foram as mais prevalentes até outubro de 2020 (Candido et al., 2020).

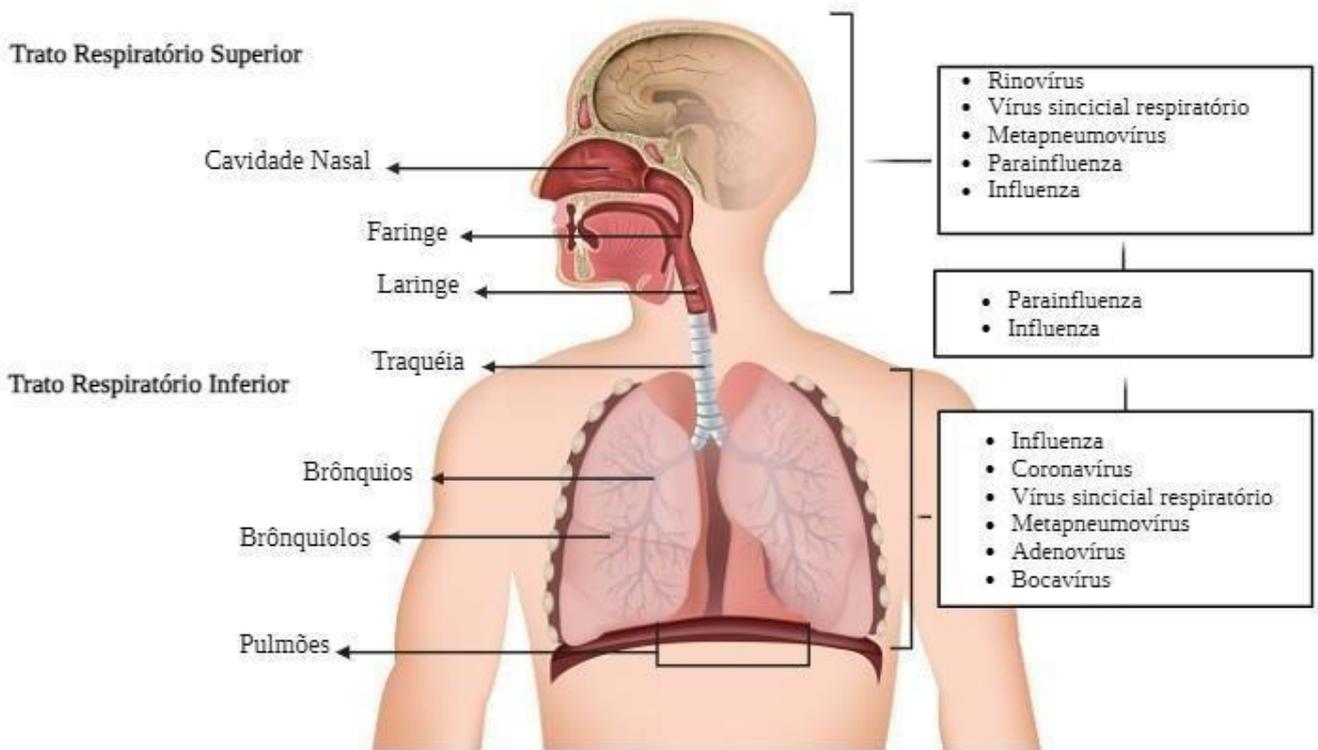
Após esse período, destacou-se a circulação de duas variantes de origem nacional, P.1 e P.2, originadas da linhagem B.1.1.28 (OPAS, 2021). A variante Gama P.1, também conhecida como variante Gama, uma VOC com 17 alterações de aminoácidos que incluem N501Y, E484K, e K417N na proteína *spike*; como deleção de ORF1b fora da proteína *spike*, foi detectada nos viajantes do Brasil para o Japão. A virulência, a transmissibilidade e o potencial de invasão imunitária desta variante permanecem desconhecidos. Ainda assim, existe uma preocupação de que esta variante possa ter facilitado as reinfecções na cidade de Manaus, no Amazonas, visto que a população possuía imunidade a variante anterior em outubro de 2020 (Yadav et al., 2022).

A variante Zeta P.2 (B.1.1.28.2), originária do Brasil foi identificada em outubro de 2020 no estado do Rio de Janeiro e foi uma entre as 7 VOIs classificadas pela OMS caracterizada naquele momento por cinco mutações definidoras e outras cinco mutações presentes na maioria dos genomas (Voloch et al., 2021). A P.2 apresenta somente uma mutação na proteína S, a mutação E484K no RBD. Essa mutação está associada ao aumento da interação do vírus com o receptores ECA-2 e ao escape de anticorpos neutralizantes contra o SARS-CoV-2. (Baum et al., 2020; Freitas; Giovanetti; Alcantara, 2021; Voloch et al., 2021). Dentre as mutações presentes no RBD, a mais preocupante parece ser a E484K que é o local onde as mutações

tendem a ter o maior efeito sobre a ligação de anticorpos (Greaney et al., 2021). Estudos mostraram que as mutações no local E484 reduzem a potência de neutralização de alguns plasmas humanos em mais de 10 vezes, embora outros plasmas não sejam afetados por mutações neste local (Greaney et al., 2021; Liu et al., 2020). A resistência à neutralização das variantes que apresentam a mutação E484K por anticorpos pode explicar os recentes casos de reinfeção pela P.2 observados no Brasil (Fintelman et al., 2021; Nonaka et al., 2021). De acordo a Rede Genômica da Fundação Osvaldo Cruz – FIOCRUZ, nos últimos meses de 2023, identifica-se a predominância da VOC ômicron e suas sublinhagens sendo elas: FE.1., XBB.1.5., XBB 1.5.70 + GK e a EG.5. Nesta conjuntura, a partir de fevereiro de 2023, as variantes ômicron são as únicas VOC em circulação. Esse tipo viral tem mais de 50 mutações descritas, quando comparada ao SARS-CoV-2 arquetipos isolado de Wuhan (Dhama et al., 2023).

2.3 Infecções respiratórias por outras etiologias

As medidas de controle implementadas pela pandemia da COVID-19 alteraram a prevalência de outros vírus respiratórios, no entanto, não se deve esquecer que um grupo diversificado de vírus, incluindo outros coronavírus humanos, rinovírus, vírus sincicial respiratório, metapneumovírus humano, parainfluenza e influenza, continuam a ser responsáveis por uma grande carga de doença. De fato, estão entre as causas mais comuns de infecções agudas das vias respiratórias do trato superior e inferior a nível mundial. Vários vírus replicam-se no trato respiratório e causam as infecções do trato respiratório, sendo que os mais relevantes pertencem às famílias *Ortho e Paramyxoviridae*, *Picornaviridae*, *Coronaviridae* e *Adenoviridae*. No entanto, são os rinovírus humanos - RVH, coronavírus, adenovírus - HAdv, vírus da parainfluenza - VPHs, metapneumovírus - MPVh e Influenza que causam infecções respiratórias do trato superior -ITRS, como mostra a figura 1. (Bizot; Bousquet; Charpié, 2021).



Criação: autor

Figura 1- **Diagrama do trato respiratório inferior e superior e seus respectivos patógenos.**

Os rinovírus humanos - RVH são vírus de RNA de cadeia simples que pertencem ao gênero *Enterovirus* da família *Picornaviridae*. Compreendendo três espécies (RV-A, -B e -C), são agentes patogênicos virais respiratórios ubíquos e prevalentes patógenos respiratórios de grande ocorrência nos seres humanos. Causam infecções durante todo o ano, com um pico de incidência na primavera e no outono nas regiões temperadas. Todos os grupos etários são suscetíveis, mas os bebês e as crianças pequenas são mais afetadas. Os hospedeiros imunocomprometidos são frequentemente infectados e apresentam uma carga prolongada de rinovírus. As reinfeções podem ocorrer ao longo da vida, causando predominantemente uma infecção do trato superior autolimitada. A transmissão ocorre por contato direto e menos frequentemente por contato indireto através de gotículas ou mesmo aerossóis (Bizot; Bousquet; Charpié, 2021). Já os adenovírus - HAdv pertencem a família *Adenoviridae*, são vírus de DNA de fita dupla classificados em sete espécies (A-G), e foram descritos mais de 60 sorotipos de adenovírus humanos. Os adenovírus têm uma distribuição mundial e as infecções ocorrem sem sazonalidade (Xiaoyan; Joshi; Flomenberg, 2014). As crianças e os doentes

imunocomprometidos apresentam um risco acrescido de infecção. Os adenovírus são transmitidos principalmente por gotículas, pela via fecal-oral e por fômites (Stephenson; Rhee; Barouch, 2020).

Os adenovírus estão mais frequentemente associados a infecções respiratórias em adultos com sintomas como a coriza, a faringite e, nas crianças, a otite média e a bronquiolite. A pneumonia é uma síndrome clínica importante associada aos sorotipos 3, 7, 14, 21 e 55 estando associadas a doença grave e à síndrome de dificuldade respiratória aguda. A pneumonia grave é mais frequentemente descrita em recém-nascidos, idosos e doentes imunocomprometidos (Khanal; Ghimire; Dhamoon, 2018).

Os adenovírus humanos podem causar infecções em qualquer idade, mas são mais frequentes na população pediátrica, especialmente em crianças pequenas e bebês. Por volta dos 10 anos de idade, a maioria das crianças já teve pelo menos um episódio de infecção por adenovírus. Os adenovírus podem causar muitos sintomas semelhantes aos da constipação comum, incluindo rinorreia, febre, tosse e dores de garganta (Shie ,2022).

Os vírus da parainfluenza humano são vírus de RNA de cadeia simples pertencentes à família dos *paramixovírus* que podem provocar infecções das vias respiratórias inferiores em bebês, crianças e indivíduos imunocomprometidos (Pawelczyk; Kowalski, 2017). VPHs humanos são uma das causas mais comuns de infecção respiratória em todo o mundo, e a gravidade da infecção está correlacionada com o local de replicação viral e o sorotipo infetante. A doença associada à VPHs é mais comum em crianças pequenas; nos adultos, a imunossupressão e a idade avançada estão associadas a uma doença mais grave (Branche; Falsey,2016).

O VPHs -1 e o VPHs -2 replicam-se no epitélio das vias respiratórias superiores, causando mais frequentemente infecções do trato superior, enquanto a replicação do VPHs-3 ocorre no trato respiratório inferior. A replicação do VPHs -3 no trato respiratório inferior torna-o o sorotipo mais comum do VPHs humano que causa infecções clinicamente significativas. Os VPHs causam ITRS ligeiras, crupe, bronquite aguda, bronquiolite e pneumonia, bem como exacerbações de asma e DPOC. A coinfeção bacteriana e fúngica não é infrequente e deve ser excluída após diagnóstico, uma vez que está associada a um aumento da mortalidade (Russell et al., 2019).

O metapneumovírus humano - MPVh são um vírus de RNA de fita simples, não segmentado e de polaridade negativa, identificado pela primeira vez em 2001 como causa de sintomas respiratórios em crianças nos Países Baixos (Van Den Hoogen et al.,2001). Atualmente, é reconhecido como uma causa comum de infecções respiratórias agudas em

crianças, idosos e doentes imunodeprimidos, tendo sido identificado como o terceiro vírus mais comum que causa pneumonia adquirida na comunidade num estudo de 2488 adultos nos EUA (Jain et al, 2015). O MPVh pode infectar e replicar-se tanto no trato respiratório superior como no inferior. Nas crianças, a ITRS pode levar a pneumonia, bronquiolite, exacerbações da asma e crupe. Em adultos jovens saudáveis, A infecção por HMPV é tipicamente uma ITRS ligeira, mas a gravidade aumenta com o aumento da idade e da comorbidade. O MPVh pode causar pneumonia e exacerbações da asma e da DPOC (Van Den Hoogen et al., 2001; Van Den Hoogen et al.,2003).

Os coronavirus são uma grande família de vírus de RNA de fita simples, envelopados e polaridade positiva, que causam um vasto espectro de doenças animais e humanas (Fung ; Liu,2019). Devido à sua ampla distribuição zoonótica e às elevadas taxas de substituições e recombinação de nucleotídeos genômicos, existe um risco constante de propagação do seu reservatório animal habitual para espécies intermédias e para o ser humano. Por conseguinte, são consideradas uma grave ameaça em potencial para a saúde mundial. Antes do aparecimento da síndrome respiratória aguda grave por SARS-CoV-2, tinham sido descobertas seis espécies de CoV capazes de infetar os seres humanos. O HCoV-229E e o -NL63 pertencem ao género *Alphacoronavirus*, enquanto que o HCoV-OC43, -HKU1, SARS-CoV e o *Middle East respiratory syndrome* (MERS)-CoV são classificados como *Betacoronavirus* (Fung; Liu,2019).

Os CoVs endêmicos humanos (-229E, -NL63, -OC43 e -HKU1) representam agentes etiológicos frequentes de ITRS, sendo responsáveis por 7-30% dos casos de resfriado comum. Em climas temperados, as infecções por CoV são comuns durante o inverno, enquanto nas regiões tropicais prevalecem durante todo o ano. Após 2-5 dias de incubação, os sintomas típicos são congestão nasal, rinorreia, faringodinia, espirros, tosse, febre dor de cabeça, anorexia e mialgias (Dominguez; Robinson; Holmes,2009; Walsh; Shin; Falsey, 2013).

No entanto, a apresentação clínica é inespecífica, e pode variar desde uma infecção assintomática até uma doença potencialmente fatal. As doenças graves são mais frequentemente observadas nos seguintes grupos: em crianças, que podem desenvolver crupe laríngeo, bronquiolite e pneumonia (Dominguez; Robinson; Holmes, 2009); em idosos com doenças crónicas subjacentes, que podem sofrer pneumonia, exacerbações da DPOC e descompensação da insuficiência cardíaca congestiva (Walsh; Shin; Falsey, 2013); e em hospedeiros imunocomprometidos, que estão em risco de pneumonia grave e insuficiência respiratória aguda (Ogimi et al., 2017). Os sintomas gastrointestinais também são observados e existem algumas provas de síndromes neurológicas relacionadas com o CoV (Dominguez; Robinson;

Holmes, 2009; Walsh; Shin; Falsey, 2013).

O vírus influenza causador da gripe por sua vez, é conhecido pelo seu potencial em causar pandemias e epidemias anuais recorrentes. Os vírus da gripe são vírus de RNA fita simples, pertencentes à família dos *Orthomyxoviridae*. A doença respiratória é principalmente causada pelos vírus da gripe A e da gripe B (Krammer et.al 2018). A gripe é classificada em subtipos com base nos antígenos da hemaglutinina (H) e da neuraminidase (N) (por exemplo, H5N1). A gripe tem uma grande variabilidade antigênica devido à deriva e à mudança antigênica. A deriva antigênica é uma variação antigênica menor, de ocorrência frequente, que ocorrem nos antígenos H e N. O vírus influenza B tem atualmente apenas duas linhagens em circulação: "Victoria" e "Yamagata". O período de incubação da gripe é de 1-4 dias. A gripe nos adultos manifesta-se com um início abrupto de febre, mal-estar, dor de cabeça, dor de garganta, tosse seca e mialgia. A febre atinge seu pico em 24 horas e dura 1 a 5 dias (Cox; Subbarao, 1999).

Os adultos mais velhos podem apresentar-se de forma atípica com febre e confusão sem sintomas respiratórios, enquanto as crianças podem apresentar febre alta e sintomas gastrointestinais. As crianças pequenas, os idosos e os doentes imunocomprometidos correm um maior risco de complicações. As complicações da gripe incluem pneumonia viral, pneumonia bacteriana secundária, miosite, complicações cardíacas (miocardite, pericardite) e complicações do sistema nervoso central (síndrome de *Guillain-Barré*, mielite transversa, encefalite) (Treanor, 2020).

O peso global das infecções respiratórias virais não relacionadas com a COVID-19 é substancial em todos os grupos etários. Para lidar com o desafio da sua prevenção e tratamento é importante reconhecer as suas síndromes clínicas e o comportamento específico dos agentes virais. Relativamente ao seu diagnóstico, os métodos emergentes de detecção molecular têm substituindo progressivamente os testes de diagnóstico convencionais, fornecendo resultados mais confiáveis e mais rápidos. Os achados imagiológicos das infecções virais respiratórias são diversos e sobrepõem-se. Embora não se possa chegar a um diagnóstico definitivo apenas com base em estudos imagiológicos, o conhecimento das características distintivas das infecções virais respiratórias virais melhora a precisão do diagnóstico, evitando tratamentos e estudos desnecessários. (Nunes et al., 2022).

Estudos preliminares de Nunes- Silva e colaboradores (2022), relataram uma ausência efetiva da epidemia sazonal anual para a maioria dos vírus respiratórios não-SARS-CoV-2 no Canadá na época de vírus respiratórios de 2020/2021. As razões para esta diminuição drástica ainda não são claras e podem refletir uma série de fatores diferentes. É provável que a aplicação de medidas rigorosas para reduzir a propagação do SARS-CoV-2 também levou a diminuições significativas na transmissão de outros vírus respiratórios. No entanto, o papel da deslocação viral e da interferência do SARS-CoV-2 ainda não é conhecido. Além disso, não é claro se a falta de exposição a vírus respiratórios não-SARS-CoV-2 durante a pandemia de COVID-19 poderá resultar em surtos maiores de outras doenças respiratórias virais. O conceito de uma recuperação nos níveis de vírus respiratórios sazonais após o relaxamento das medidas de distanciamento social merece uma análise mais aprofundada.

2.4 Microbiota e a saúde respiratória

Durante milhões de anos as comunidades microbianas tem co-evoluído com os humanos e nossos ancestrais, habitando todas as superfícies do corpo, incluindo a mucosa do trato respiratório. Locais específicos no trato respiratório contêm comunidades bacterianas especializadas, que possuem um papel importante na manutenção da saúde humana (Man Wh.2017).

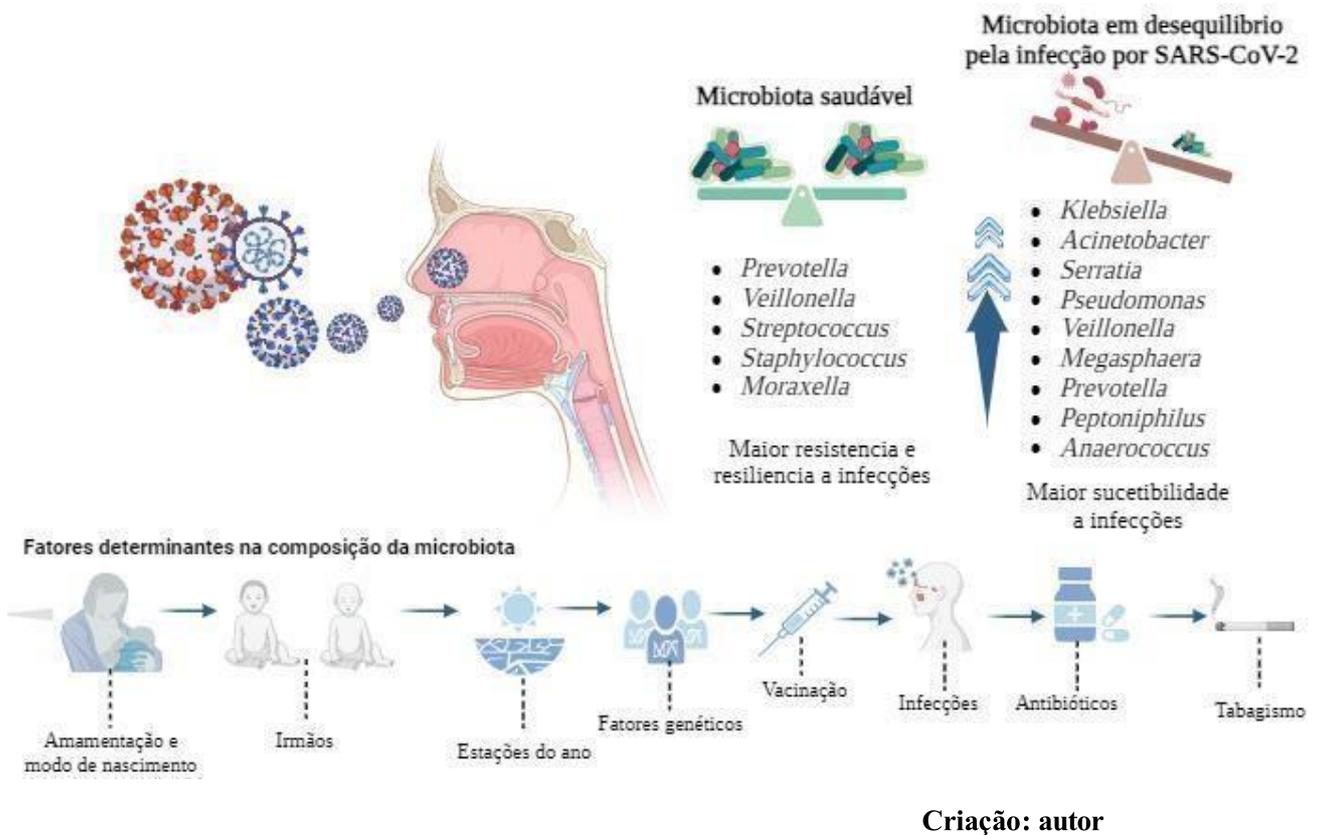


Figura 2. Composição microbiana em indivíduos saudáveis e com infecções respiratórias pelo SARS-CoV-2 assim como os fatores que determinam essa composição, fundamentada nos trabalhos de Man Wh.2017; Li et al., 2023.

Até agora, as pesquisas se concentraram em grande parte na microbiota intestinal e metabólitos derivados dessa comunidade, e sua influência no metabolismo e imunidade do hospedeiro. No entanto, estudos recentes sobre ecossistemas microbianos em outros locais do corpo, incluindo o trato respiratório, revelaram um papel ainda mais amplo para a microbiota na saúde humana (Lloyd-Price et al., 2016). O microbioma humano consiste no coletivo de genomas de microrganismos anfibióticos, vivendo no corpo humano tendo um papel-chave na saúde e imunidade (Abt Mc et al., 2012). Cada *habitat* corporal abriga uma comunidade bacteriana característica, (Costello et al.,2009; Huttenhower C et al.,2012) que não é constante ao longo da vida, sofrendo mudanças com a idade (Thomas et al., 2017). Normalmente, a microbiota dos indivíduos é estável ao longo do tempo, embora seja sensível a mudanças no estilo de vida, dieta e doenças (David et al.,2014; Lozupone et al.,2012;). Perturbações destes ecossistemas microbianos podem ser associados a várias doenças, incluindo a doença inflamatória intestinal, infecção por *Clostridióides* assim como condições associadas a doenças críticas (ou seja, septicemia, doenças respiratórias agudas e síndrome da disfunção de órgãos múltiplos) (Lozupone et al.,2012; Prescott et al.,2015; Yamada et al.,2015).

Além de facilitar as trocas gasosas, o epitélio das vias respiratórias desempenha um papel crucial de barreira física e química contra infecções por microorganismos. Essa função é alcançada através da combinação entre a ação mucociliar nessas áreas e a manutenção de uma barreira física eficaz. O muco, produzido por células caliciformes, desempenha um papel fundamental na captura e neutralização de microrganismos por meio de mucinas, proteínas antimicrobianas e imunoglobulinas secretadas pelas células epiteliais. Os cílios presentes na superfície apical das células ciliadas coordenam-se para movimentar o muco e os microrganismos nele retidos para longe das vias respiratórias, expulsando-os. Esta ação representa a primeira linha de defesa contra microrganismos invasores (Bergelson, 2009; Voynow ; Rubin, 2009).

A formação da barreira física é composta por proteínas que facilitam a adesão estreita célula-célula entre as células epiteliais. Isso inclui a presença de junções estreitas (TJs), junções aderentes (AJs), junções gap (GJs) e desmossomas (Rezaee ; Georas, 2014). Essas estruturas constituem uma barreira altamente eficaz que previne a penetração de vírus e bactérias através da camada epitelial, impedindo sua disseminação sistêmica na circulação e o acesso aos receptores virais na superfície epitelial basolateral (Bergelson, 2009; Voynow ; Rubin, 2009; Sharma et al., 2020).

As células epiteliais e as células sensoriais residentes, como os macrófagos e células dendríticas, possuem a capacidade de detectar e reagir à presença de microrganismos por meio de receptores conhecidos como "receptores de reconhecimento de padrões" (PRRs). No epitélio respiratório, esses PRRs incluem os receptores Toll-Like (TLRs), fator de crescimento epidérmico (EGF) e lectinas do tipo C. Eles são responsáveis pelo reconhecimento de moléculas microbianas conservadas, como componentes das paredes celulares bacterianas e fúngicas, flagelina, DNA e RNA viral, além de elementos das células do hospedeiro que indicam danos celulares (Parker; Prince, 2011).

A detecção desses componentes bacterianos, fúngicos e virais desencadeia a liberação de moléculas sinalizadoras, como citocinas e quimiocinas, que iniciam a resposta imune inata (Invernizzi et al., 2020). Por exemplo, a ativação dos PRRs pode influenciar as junções entre as células (incluindo TJs, GJs, AJs e desmossomas) por meio do aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias ou do fator de crescimento epidérmico (EGF). Esse processo pode resultar no enfraquecimento ou fortalecimento da barreira epitelial respiratória (Lebeer et al., 2010; Martens et al., 2018). Embora a microbiota seja em parte controlada pela exclusão do do epitélio por meio dos mecanismos previamente descritos, existem evidências indicando que os microrganismos comensais também podem desencadear diretamente a tolerância imunológica e suprimir a ativação de sinais inflamatórios (Nesbitt; Burke; Haghi, 2021).

A cavidade nasal humana abriga bactérias que suprimem a colonização de patógenos oportunistas, competindo por espaço limitado e nutrientes, podendo até mesmo produzir compostos tóxicos que inibem diretamente ou matam microrganismos concorrentes (Hardy et al., 2019). Nas últimas décadas, estudos clínicos descobriram os papéis críticos desempenhados pela microbiota na direção e regulação de vários sistemas biológicos ao longo do corpo. Doenças como, síndrome inflamatória crônica do intestino, úlceras pépticas e infecções virais foram doenças recentemente associadas a mudanças significativas na microbiota do intestino, cavidade nasal e bucal (Kolhe et al., 2021).

O trato respiratório superior (TRS) é colonizado por uma grande variedade de bactérias que constituem a microbiota respiratória. Dentre essas bactérias, as mais conhecidas são as chamadas anfiobióticas, ou seja, microorganismos que habitam o trato respiratório sem causar danos a esse sítio, mas podem induzir a processos inflamatórios em situações de desequilíbrio. Espécies anfiobióticas como por exemplo, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Staphylococcus aureus*, que podem colonizar o TRS de forma assintomática, mas têm o potencial de causar doenças (Schenck; Surette; Bowdish, 2016).

Como mostra a figura 2. o perfil bacteriano associado com o estado respiratório saudável inclui *Prevotella*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Moraxella*. E os fatores determinantes para essa composição vão desde a fatores como modo de nascimento, amamentação, contato com irmãos e outras crianças em creches, estações do ano além de fatores genéticos entre outros. Por outro lado, a microbiota em desequilíbrio por infecções respiratórias causadas pelo SARS CoV-2 estão relacionadas com uma menor diversidade grupos microbianos responsáveis pela saúde respiratória e aumento da quantidade de bactérias patogênicas, tais como *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Veillonella*, *Megasphaera*, *Prevotella*, *Peptoniphilus* e *Anaerococcus* (Li et al., 2023; Man Wh.2017).

Os vírus respiratórios têm entrada no organismo humano pelas vias aéreas superiores, conhecidas como porções condutoras. Eles são os principais agentes causadores de infecções agudas no trato respiratório. Um possível mecanismo pelo qual a gripe causada pelo vírus influenza e outras infecções virais podem predispor os indivíduos infectados a desenvolver pneumonia bacteriana secundária é a alteração na composição microbiana das vias respiratórias superiores. Isso pode promover o crescimento de agentes patogênicos, facilitando a subsequente entrada de grandes quantidades de bactérias no sistema respiratório inferior (Leung, 2021).

O SARS CoV -2 causador da COVID-19 penetra no hospedeiro através das vias respiratórias superiores, e a barreira nasal é a primeira linha defensiva para evitar a infecção. Uma vez que o vírus tenha entrado nas células alvo do trato respiratório, a replicação, maturação e liberação do vírus ocorrem enquanto a célula hospedeira sofre apoptose com a liberação de moléculas inflamatórias. Estes eventos iniciais iniciam uma resposta imunológica que pode levar à resolução da infecção ou, se não for funcional, desencadear uma tempestade de citocinas que exacerba a inflamação pulmonar e aumenta a suscetibilidade a infecções bacterianas ou fúngicas secundárias. Para além disso, a tempestade de citocinas pode causar lesões potencialmente fatais em vários órgãos (Tay et al ., 2020).

2.5 Mecanismos de resposta imune do hospedeiro frente às infecções respiratórias virais

Para compreender a patogênese das doenças infectoparasitárias e as diversas estratégias empregadas pelo hospedeiro e pelo agente infeccioso, é fundamental adquirir conhecimento sobre os principais mecanismos de defesa do sistema imunológico e as variadas interações entre o hospedeiro e os agentes infecciosos. Assim como em uma rede de colaboração, o sistema imunológico opera com a contribuição de diversos elementos estruturais, moleculares e celulares. Nesse contexto, reside o equilíbrio entre saúde e doença, na qual tanto a insuficiência das respostas imunológicas quanto sua hiperatividade podem resultar em danos teciduais (Machado et al., 2004). Em relação aos múltiplos mecanismos de defesa contra vírus, as doenças virais não apenas são frequentes, mas atualmente representam uma das principais causas de mortalidade na população.

Os seres humanos estão continuamente expostos a microrganismos invasores, como os vírus. A resposta do hospedeiro humano à detecção e enfrentamento desses vírus invasores desempenham um papel crucial no desfecho das infecções. A detecção inicial de uma infecção viral depende principalmente da identificação de ácidos nucleicos virais, ou seja, DNA ou RNA. Esses ácidos são identificados pelo hospedeiro através de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), os quais estão codificados na linha germinal. As vias de sinalização associadas constituem uma grande parte do sistema imunitário inato. Após a ativação destes PRRs, são produzidos interferons (IFNs), de tipo I e tipo III quimiocinas e citocinas pró- inflamatórias são produzidas para ativar a inflamação. Os interferons de tipo I e de tipo III são potentes agentes antivirais, uma vez que induzem a expressão de genes estimulados por interferons (ISGs), alguns dos quais atuam como fatores diretos de restrição do vírus, estabelecendo assim o "estado antiviral" nas células vizinhas não infectadas (Carty, M.; Guy, C.; Bowie, A, G, 2021).

No contexto da COVID-19, a capacidade de resposta inflamatória do organismo desempenha um papel crucial. Quando essa resposta é eficiente e bem equilibrada, a doença tende a seguir um curso autolimitado e menos severo. Contudo, em alguns casos, a doença assume uma forma grave, afetando uma parcela de pacientes que desenvolvem uma resposta imunológica exagerada ao vírus SARS-CoV-2. (Brandão et al, 2020).

Quando a infecção atinge as células humanas, estas são prontamente identificadas pelos sistemas imunológico inato e adaptativo. Essas duas linhas de defesa desencadeiam a produção de uma variedade de citocinas como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e o interferon-

gama (IFN- γ). O TNF- α desempenha um papel importante na ativação dos neutrófilos, na promoção da coagulação sanguínea e na regulação da temperatura corporal, incluindo a indução da febre. Enquanto isso, o IFN- γ desencadeia uma atividade macrofágica destinada a destruir o patógeno e amplifica a liberação de diversas citocinas, incluindo aquelas com propriedades pró-inflamatórias, pró-fibróticas e regulatórias da resposta imunológica (Brandão et al, 2020).

No caso específico do SARS- CoV-2, depois de entrar numa célula alvo, o vírus é reconhecido por receptores de reconhecimento de padrões, tais como como os receptores *Toll-like* 3, 7, 8 e 9 e os sensores de infecção viral RIG-I e MDA5, e o reconhecimento viral induz um mecanismo de resposta ao interferon (IFN) de tipo I e os genes estimulados pelo IFN (Fitzgerald; Kagan, 2020). A resposta do TLR3 desencadeia a transcrição do gene NLR (NLRP3), que juntamente com outras respostas celulares à infecção viral, tais como a formação do fluxo de cálcio a partir de espécies oxidativas reativas, o fluxo de cálcio das reservas citoplasmáticas, a agregação de proteínas e a liberação de padrões associados a patógenos contribui para a ativação do inflamassoma do NLRP3 e, provavelmente, de outros complexos de inflamassoma (Nieto et al., 2015).

Durante a pandemia de COVID-19, têm surgido e se disseminado ao redor do mundo variantes do SARS-CoV-2. Segundo os dados apresentados pela Nextstrain, foram analisados 2.920 genomas entre dezembro de 2019 e abril de 2022 (https://nextstrain.org/ncov/open/global?c=emerging_lineage). Ainda que a aparição dessas novas variantes seja inevitável e muitas delas não causem grandes mudanças no comportamento do vírus, algumas mutações podem resultar em alterações fenotípicas notáveis. Plataformas internacionais de coleta de dados genômicos de patógenos, como GISAID, Nextstrain e Pango, têm monitorado e nomeado essas diferentes linhagens genéticas do SARS-CoV-2. Para facilitar a discussão e evitar confusões, a Organização Mundial da Saúde (OMS) coordenou reuniões entre cientistas e representantes do GISAID, Nextstrain e Pango. Essas reuniões tiveram como objetivo nomear e rastrear Variantes de Interesse (VOIs) e Variantes de Preocupação (VOCs) utilizando letras do alfabeto grego, de acordo com o impacto global desses fatores (Gong et al., 2023)

A VOC é definida como uma variante do SARS-CoV-2 que satisfaz a definição de uma VOI e que demonstrou estar associada a uma ou mais das seguintes alterações com um grau de importância para a saúde pública mundial: 1) aumento da transmissibilidade ou alteração prejudicial na epidemiologia da COVID-19; 2) aumento da virulência ou alteração na apresentação clínica da doença; ou 3) diminuição da eficácia das medidas sociais e de saúde pública ou dos diagnósticos, vacinas e terapêuticas disponíveis. Em 30 de agosto de 2021,

quatro VOCs (alfa, beta, gama e delta) foram designados pela OMS. Com base na atualização epidemiológica da OMS, em 31 de agosto de 2021, as variantes alfa, beta, gama e delta se espalharam para 193, 141, 91 e 170 países, respectivamente (Choi; Smith, 2021).

Em 14 de dezembro de 2020, o Reino Unido (RU) notificou uma VOC do SARS-CoV-2, linhagem B.1.1.7, que ficou conhecido como a variante "alfa", de acordo com a OMS (*Public Health England*). A VOC alfa surgiu provavelmente em setembro de 2020, tendo-se tornado rapidamente a variante circulante dominante no RU em poucos meses e depois foi exportado para todo o mundo, o que implica uma vantagem de aptidão em relação à linhagem original (Chaillon A.; Smith D.M, 2021). A variante alfa inclui 17 mutações no genoma viral. Entre estas, oito mutações encontram-se na proteína S (Davies et al.,2021). Dessas mutações, duas delas aumentam a afinidade de ligação do vírus ao receptor ACE2 das células hospedeiras (Davies et al.,2021.; Starr et al., 2020). As principais mutações de B.1.1.7 que afetam fortemente a transmissibilidade, a gravidade da doença e a taxa de infecção são N501Y, a deleção H69/V70 e P681H/R. A P681H é adjacente ao local de clivagem da furina na *spike*, que é um fator determinante para a transmissão (Kemp et al., 2020). Além disso, a deleção H69/V70 na proteína S está ligada ao escape imunológico e pode causar falhas ou resultados inconclusivos nos kits de testagem e também podem aumentar o tempo de infecção e o risco de complicações graves. Especula-se que esta deleção modifica os epítomos imunodominantes localizados em *loops* variáveis no NTD, conferindo resistência à neutralização por soros de pacientes convalescentes e indivíduos vacinados (McCarthy et al., 2021).

Em 18 de dezembro de 2020, pesquisadores da África do Sul relataram a linhagem B.1.351 do SARS-CoV-2 (também conhecida como 501Y.V2), que foi nomeada como a variante beta de acordo com a OMS. Essa variante foi identificada na África do Sul após a primeira onda da epidemia em uma área metropolitana severamente afetada (Nelson Mandela Bay) localizada na costa da província do Cabo Oriental (Tang et al., 2021). A variante beta inclui nove mutações (L18F, D80A, D215G, R246I, K417N, E484K, N501Y, D614G e A701V) na proteína S, das quais três mutações (K417N, E484K e N501Y) estão localizadas no RBD. A substituição N501Y também foi identificada na variante alfa no Reino Unido, e a mutação demonstrou anteriormente aumentar a afinidade de ligação à ACE2 humana (Starr et al., 2020.; Davies et al.,2021). As substituições E484K e K417N também aumentam a afinidade de ligação à ACE2 humana, e a combinação de N501Y, E484K e K417K aumenta ainda mais a afinidade de ligação (Gard Nelson et al., 2021).

A gama variante ou variante P.1, também conhecida como 20J/501Y.V3, é um ramo da linhagem B.1.1.28 que foi detectada pela primeira vez no Brasil (Sabino et al., 2021) e se tornou

uma variante dominante no país (Faria et al., 2021). A variante P.1 acumulou 12 mutações na proteína *spike*, incluindo a mutação N501Y, que também está presente em B.1.1.7 e B.1.351, enquanto as mutações L18F, K417T, E484K e D614G são compartilhadas com a variante B.1.351. No total, a P.1 contém 12 mutações na *spike* para além da D614G, incluindo K417T, E484K e N501Y no RBD, L18F, T20N, P26S, D138Y e R190S no NTD, e H655Y perto do local de clivagem da furina (Sabino et al., 2021.; Faria et al., 2021.; Naveca et al., 2021). Uma vez que a variante P.1 partilha três mutações nos resíduos RBD da *spike*, nomeadamente K417T, E484K e N501Y com a B.1.351, é resistente à neutralização por vários anticorpos monoclonais dirigidos à RBD, devido à presença da mutação E484K (Xie et al., 2021; Wang et al., 2021; Wibner et al., 2021).

A linhagem B.1.617, também conhecida como G/452.V3 ou variante delta, foi identificada pela primeira vez em Maharashtra, na Índia, em 5 de outubro de 2020, e é também referida como uma variante de "dupla mutação". A análise pormenorizada do genoma e das proteínas da B.1.617 revelou que surgiu de forma independente na Índia. Em 10 de maio de 2021, a Organização Mundial de Saúde (OMS) designou a B.1.617 e as suas sub-linhagens, nomeadamente a B.1.617.1 (Kappa), a B.1.617.2 (Delta) e a B.1.617.3, como "Variante preocupante". A B.1.617 apresenta múltiplas mutações na proteína *spike*, incluindo D111D, G142D, L452R, E484Q, D614G, P614R e P681R (Dagan et al., 2021). A "mutação dupla" refere-se às mutações da B.1.617 na sequência de codificação da proteína *spike* do SARS-CoV-2 em E484Q e L452R, que estão ligadas ao aumento da transmissão e da infecciosidade (Starr et al., 2020; Deng et al., 2021).

A Omicron foi a quinta VOC do SARS-CoV-2 e é a única em circulação. Esta variante tem representado recentemente uma elevada ameaça para a saúde pública mundial, sendo a mais mutante, altamente transmissível, e é comparativamente resistente, aos imunoterapêuticos ou vacinas atualmente disponíveis (Khandia et al., 2022; Chen et al., 2022; Syed et al., 2022; Torjesen, 2021). Para além da B.1.1.529, existem outras linhagens da variante Omicron: BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.3, BA.4 e BA.5 (CDC, 2022; Desingu; Nagarajan 2022).

A Omicron substituiu rapidamente a Delta, tornando-se a variante dominante em circulação a nível mundial. Embora os relatórios de vários países sugerem que os doentes infectados com Omicron apresentavam sintomas menos graves do que a variante Delta, muita desta informação não foi ajustada para potenciais fatores de confusão, como a imunidade prévia à infeção ou à vacinação e a disponibilidade de imunidade prévia à infeção ou vacinação e a disponibilidade de terapêuticas específicas para a COVID-19 (Relan et al., 2023).

A característica mais preocupante da variante Omicron é a é o agrupamento de 50 mutações, das quais cerca de 30 mutações foram detectadas na proteína *spike* (Thakur; Kanta Ratho, 2022). Estas mutações estão amplamente distribuídas em várias proteínas, incluindo NSP3, NSP4, NSP5, NSP6, NSP12, NSP14, proteína S, proteína do envelope, proteína da membrana e proteína do nucleocapsídeo (Chen et al., 2021) No entanto, as mutações mais temidas são as do domínio de ligação ao receptor (RBD).

Surpreendentemente, o RBD da Omicron tem nove substituições (K417N, G446S, S477N, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y e Y505H), que estão localizadas na interface de ligação da ACE2, afetando consideravelmente o reconhecimento do receptor, o tropismo celular e o padrão de entrada, particularmente em combinação com outras mutações como como H655Y, N679K e P681H. Assim, a compreensão da base molecular subjacente ao aumento da transmissibilidade, da resistência imunitária e das propriedades virológicas da variante Omicron pode facilitar o desenvolvimento de estratégias de intervenção para travar esta crise iminente (Cui et al., 2022).

Nesse contexto, entender como as doenças causadas pelos agentes virais se desenvolvem e a várias maneiras pelas quais o hospedeiro e os agentes infecciosos interagem, assim como os mecanismos de escape imunológico e o impacto da infecção sob a luz das variantes da COVID-19 são fundamentais para compreender a patogênese das infecções respiratórias virais e se tornam essenciais para prospeccionar novos estudos e gerir não só a pandemia da COVID-19 assim como as epidemias sazonais anuais por outros vírus respiratórios.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar comparativamente a estrutura da microbiota do trato respiratório superior de amostras oriundas de secreções nasofaríngeas e as características epidemiológicas entre os indivíduos hospitalizados e comunitários com SRAG devido a COVID-19 e os indivíduos com infecção respiratória aguda devido a outras etiologias.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Selecionar grupos de indivíduos a partir de um banco de amostras clínicas de diagnóstico da COVID-19 na UFJF cujos resultados de diagnóstico permitam a classificação das amostras como relacionadas a indivíduos comunitários ou hospitalizados COVID-19 +, Indivíduos de origem comunitária atendidos em unidades básicas de saúde COVID-19 + e indivíduos de origem comunitária atendidos em unidades de saúde negativos para o diagnóstico de COVID-19 portadores de SRAG.

- ✓ Criar um banco de dados com características socio-epidemiológicas e clínicas de indivíduos dos 3 grupos atendidos no serviço de diagnóstico molecular da COVID-19 do ICB/UFJF.

- ✓ Obter de extratos de DNA metagenômico total a partir de espécimes da nasofaringe para estudo comparativo de perfil microbiano pela amplificação de fragmentos de regiões repetidas (GTG'5.) representativas dos genomas bacterianos mais abundantes nas amostras.

- ✓ Correlacionar as características sócio epidemiológicas e clínicas e os perfis microbianos comparativamente nos diferentes grupos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Descrição epidemiológica da infecção pelo SARSCoV2 em Minas Gerais

De acordo aos dados do DATASUS, de 2020 a 2023, período pico epidêmico do SARS CoV-2 no Brasil, o estado de Minas de Gerais, acumulou 4.202.102 casos, com 2.775 novos casos notificados até 09/12/23, com incidência da COVID-19 (100 mil hab) de 19.996,90. Quanto aos óbitos acumulados ao longo desses anos de pandemia, foram notificados 65.881, com taxa de mortalidade (100 mil hab) de 312,06. O último informe epidemiológico datado do dia 31 de outubro de 2023 detalha o perfil epidemiológico dos casos de COVID-19 em MG de 2020 a 2023. Dos 4.202.102 total de casos confirmados, 216.990 apresentaram SRAG e 65.881 evoluíram para óbito. A proporção de casos em relação ao sexo foi em sua maioria em feminino (56%) contra 44% em indivíduos do sexo masculino, a maioria dos casos confirmados por raça se dividiu entre Brancos (33,82%) e pardos (33,07%) com os menores percentuais entre pretos (4,25%) e amarelos (3,02%). A quantidade de casos em relação a faixa etária acometeu em sua maioria indivíduos de até 59 anos com os menores percentuais entre os idosos (> 60 anos). Em relação aos óbitos notificados, o ano de 2021 foi o ano com maior percentual de mortes (67,07%). Entre os indivíduos com desfecho óbito o maior de percentual foi de homens (54,74%) 42,26% de indivíduos do sexo feminino, com proporção de óbitos por raça com os maiores percentuais entre brancos (44,55%) e pardos (40,14%) e os menores entre os indivíduos pretos (8,01%). Indivíduos com faixa etária superior a 60 anos foram os que mais apresentaram desfecho fatal. As comorbidades de maior ocorrência observadas entre os indivíduos acometidos pela COVID-19 em MG foram Cardiopatias, Diabetes e Obesidades. As cidades que pertencem a Zona da Mata mineira, assim como seus respectivos números de casos confirmados e óbitos por COVID-19 são: Cataguases (17.817 casos – 299 óbitos), Juiz de Fora (76.997 casos – 2434 óbitos), Manhuaçu (12.125 casos – 269 óbitos), Muriaé (18.604- óbitos 381), Ponte Nova (10.914 casos – óbitos 226), Ubá (28.220 casos – 381 óbitos) e Viçosa (20.042 casos – 168 óbitos) sendo os municípios de Juiz de Fora e Ubá os com maiores percentuais de casos e óbitos respectivamente.

4.2 Indicadores epidemiológicos e geográficos de Juiz de Fora -MG

Juiz de Fora é um município brasileiro no interior do estado de Minas Gerais. Localiza-se na Zona da Mata Mineira, a sudeste da capital do estado, com base em dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE a população residente de acordo ao último censo 2022 é de 540.756 pessoas. A taxa de escolarização é o percentual de pessoas de 6 a 14 anos

que frequentam a escola em relação ao total de pessoas do mesmo grupo etário. É divulgada pelo suplemento de Educação da PNAD Contínua - Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua. A taxa para Juiz de Fora, foi de 99,4 % para o ano de 2022 (último censo), o produto interno Bruto PIB, medida pelo SCNT - Sistema de Contas Nacionais Trimestrais - traz a evolução do PIB no tempo, comparando seu desempenho trimestre a trimestre e ano a ano, foi de 42.247,52 (2021) com variação de 3,4% com base no ano 2023.

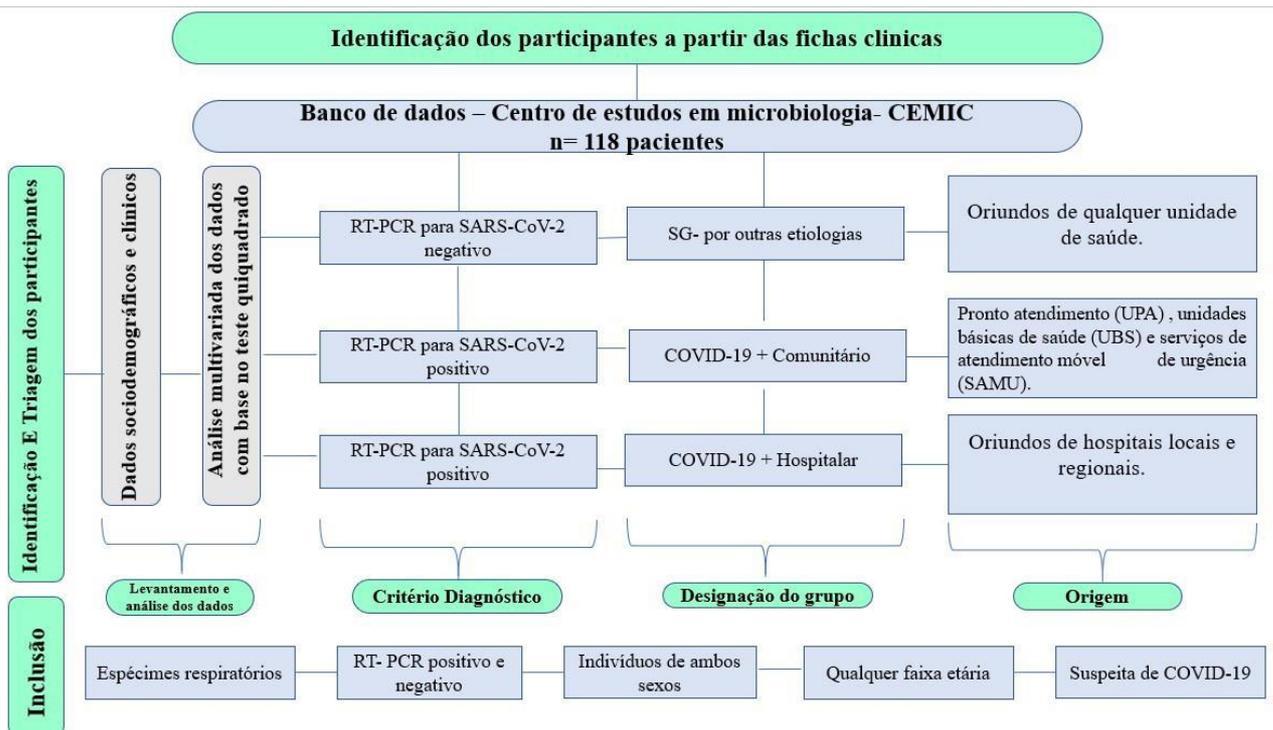
Os indicadores epidemiológicos em relação ao quadro da COVID-19 no município de Juiz de Fora com base nos dados do DATASUS, base esta alimentada pelas secretarias de saúde, durante o período da crise sanitária que acometeu o Brasil e o mundo em 2020. Durante o período de 2020 a 2023, o número de casos confirmados de COVID-19 acumulados foi de 77.236, com incidência de 13.577,02 a cada 100 mil habitantes, número de óbitos de 2.436 e taxa de mortalidade de 428,22 a cada 100 mil habitantes.

4.3 Seleção dos participantes do estudo

Esta pesquisa faz parte de um projeto maior intitulado “Aspectos epidemiológicos e moleculares da COVID-19 na Zona da Mata Mineira, construção de vetor recombinante com potencial para vacina oral e interferência do SARS-CoV-2 na estrutura da microbiota do trato respiratório superior, com implicações na evolução da doença”, aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da instituição, sob o número: 4.057.992 e CAAE nº 31527720.3.0000.5147 aprovado em 29/05/2020. O estudo recebeu dispensa do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), tendo em vista que foram utilizados somente dados obtidos do prontuário eletrônico dos pacientes e espécimes respiratórios sob custódia da Universidade Federal de Juiz de Fora – (UFJF) e utilizados na vigência da atuação do Centro de Estudos em Microbiologia - CEMIC - no diagnóstico molecular da COVID-19. Foram inseridos na pesquisa 118 indivíduos de ambos os sexos, adultos que buscaram os serviços de saúde sob suspeita de COVID-19, com teste RT-PCR para SARS-CoV-2 positivo e negativo. Os indivíduos foram divididos da seguinte forma: grupo 1 ou G1 – Síndrome gripal por outras etiologias, grupo 2 ou G2 - COVID-19⁺ comunitário e grupo 3 ou G3 - COVID-19⁺ hospitalar. O n amostral incluiu todos os pacientes com teste RT-PCR para SARS-CoV-2 positivo (+) e negativo (-), no período de abril a julho de 2020, totalizando 118 pacientes. Este período foi definido, por ser o início da pandemia no Brasil com elevação do número de casos especialmente internações em UTI. A definição dos grupos se deu mediante a triagem, tendo como critério a origem do participante, considerando-se indivíduos de ambos os sexos e qualquer faixa etária com teste RT-PCR para

SARS-CoV-2 positivo e negativo que buscaram o Sistema Único de Saúde (SUS) sobre a suspeita de COVID-19. Para os indivíduos SG por outras etiologias foram considerados aqueles com exame RT-PCR para SARS-CoV-2 negativo oriundos de qualquer unidade de saúde, para os participantes COVID-19 positivos (+) comunitários foram incluídos aqueles provindos de unidades de saúde onde se prioriza o atendimento dos casos suspeitos de coronavírus por meio da atenção primária, ou seja, pelo atendimento inicial, onde é considerado a porta de entrada dos usuários nos sistemas de saúde sendo eles: unidades de pronto atendimento (UPA), unidades básicas de saúde (UBS) e serviços de atendimento móvel de urgência (SAMU), os participantes COVID-19 positivos (+) hospitalizados foram incluídos aqueles admitidos em hospitais locais e regionais. O detalhamento da triagem dos participantes selecionados, assim como os critérios de inclusão estão expostos no fluxograma 1.

Fluxograma 01. Fluxograma de seleção dos participantes do estudo



Este estudo trata-se de uma análise retrospectiva, onde foram analisadas amostras de *swabs* de nasofaringe e orofaringe, de pacientes provenientes do Sistema Único de Saúde (SUS) de Juiz de Fora-MG e adjacências. As amostras foram processadas no Laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, sendo mantidas sob refrigeração até o momento das análises.

4.4 Coleta de dados e variáveis de estudo

Os dados foram levantados a partir das fichas de notificação sob custódia do Centro de estudos em microbiologia (CEMIC) da Universidade Federal de Juiz de Fora – (UFJF), fichas estas, preenchidas no período pico epidêmico, momento este, em que os indivíduos participantes buscaram os serviços de saúde sob suspeita de COVID-19. E devido a esse cenário, alguns campos obrigatórios das fichas de notificação apresentaram-se incompletos. As variáveis estudadas foram: sexo, faixa etária, escolaridade, vacinação da gripe na última campanha (2019), comorbidades e sintomas.

4.5 Extração de DNA a partir de espécimes respiratórios

A extração de DNA metagenômico foi realizada através da técnica do Fenol-Clorofórmio. Para o protocolo Fenol – Clorofórmio (SAMBROOK et al., 2001), tubos eppendorf 1,5 ml contendo aproximadamente 1ml de amostras respiratórias foram submetidas à centrifugação por 10 minutos a 14.000 rpm para formação do pellet. Em seguida, a massa celular bacteriana foi ressuspendida em 500µL de tampão de lise (1 mM Tris-HCl-pH 8,0, 0,5 M EDTA-pH 8,0, Sacarose 25% em TE, Lisozya e H₂O qsp) vortexada e incubada em banho-maria a 37°C por uma hora. Após o tempo de incubação, foi adicionado 50 µL de SDS 20% seguido de 30 min de incubação em temperatura ambiente. Posteriormente, o DNA foi purificado com a adição de 500µL de Fenol saturado com Tris e em seguida foi adicionado 500µL de clorofórmio/álcool isoamílico (29:01) seguido de homogeneização e centrifugação a 14.000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. A fase aquosa foi transferida para um novo tubo de 1,5 ml limpo e novamente foi adicionado 500µL de clorofórmio/álcool isoamílico (29:01) homogeneizado e seguido de nova centrifugação a 14.000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. A fase aquosa foi transferida para um novo tubo eppendorf de 2,0 mL limpo e a precipitação foi feita adicionando-se 50 µL de acetato de potássio a 5M, a mistura homogeneizada, e adicionou-se 1,2 mL de etanol gelado (ice cold), a solução foi mantida em overnight a -20°C. Após isso as amostras foram centrifugadas a 4°C por 30 min a 14.000 rpm. Em seguida, o etanol foi descartado e drenado dos tubos e o pellet de DNA foi lavado com Etanol 70%, secado a temperatura ambiente e ressuspendido em 30µL de TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0, 1 mM EDTA) e os DNAs foram armazenadas a -20°C. A concentração e pureza foi determinada utilizando-se a relação 260/280 nm, estabelecendo-se o valor de 1.75 como referência mínima e foram determinadas por espectroscopia utilizando-se o NanoDrop™ Lite Spectrophotometer (Thermo

Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA), de acordo as informações do fabricante. A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8% em tampão TBE 0,5X (Tris-HCl-Borato EDTA), corado com brometo de etídio (EtBr) (SigmaAldrich) e visualizado em transiluminador ultravioleta. O DNA representativo do metagenoma do trato respiratório superior extraído foi aliquoteado e armazenado em freezer a -80°C.

4.6 Avaliação da estrutura da comunidade microbiana

A técnica de rep-PCR, que produz um fingerprint ou “impressão digital” do genoma bacteriano foi utilizada para avaliação da estrutura global da comunidade microbiana. A reação de rep-PCR foi realizada utilizando o DNA total extraído diretamente do Swab de naso/orofaringe dos participantes entre os três grupos amostrais. As reações de PCR foram realizadas de acordo com a literatura de (GEVERS et al.,2001), com modificações, utilizando um único primer (GTG)'5 (5'-GTGGTGTGGTGGTGGTG-3'). Essas reações foram realizadas em volumes de 25 µL contendo: Master mix Taq Pol (2X) Green 12,5 µL (Cellco Biotec- Brasil), Primer (GTG)'5 (IDT -USA) 2µL, 2 µL de DNA (20 ng/µL) e água ultrapura de PCR (Promega Corporation, Madison, WI, EUA) foi adicionada a um volume final de 25 µL. A amplificação foi realizada em termociclador automatizado (Biometra T1 Thermal Cycler, Gttingen, Alemanha) programado nas seguintes condições: Aquecimento a 99 ° C ,5 min a 95°C, 30 ciclos de 1 min a 94 ° C, 1 min a 50 ° C ,2 min a 72 ° C e uma extensão final de 10 min a 72°C. Os amplicons foram separados em de gel de poliacrilamida 6% (p/v) com uma relação acrilamida/bis-acrilamida de 29:1 em tampão Tris/Borato/EDTA 1x (TBE) refrigerado, com um tempo de corrida eletroforética de 10 horas, usando-se uma fonte de eletroforese (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NY) sob uma tensão constante de 70 V, corrente elétrica de 400 mA e potência elétrica 120 W. Foi utilizado um marcador de peso molecular de 1Kb DNA ladder (Promega, Madison, WI, USA). O gel de poliacrilamida foi corado utilizando- se 10µL brometo de etídio (EtBr) - (SigmaAldrich) e as imagens foram registradas usando transiluminador UVI Pro Platinum 1.1 Gel Software (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). O padrão de bandeamento obtido pela visualização das bandas de fragmentos de DNA amplificados nas reações de rep-PCR foi considerado para avaliação do perfil estrutural da microbiota representativa do trato respiratório superior dos indivíduos dos 3 grupos amostrais. As análises foram feitas por diferenciação no padrão de bandas, utilizando-se inspeção visual dos géis de amplificação sendo escolhidas 13 bandas majoritárias para cada indivíduo, onde criou-se uma matriz binária na qual a presença de bandas correspondente a cada unidade taxonômica operacional (OTU)

foi codificada como “1” presença e ausência como “0”.

4.7 Análises Estatísticas

Os dados clínicos e epidemiológicos foram organizados e tabulados em planilhas no programa Excel (*Microsoft Office*, 2019), onde foram feitas tabelas de frequência para cada uma das variáveis, seguido de tabelas de dupla entrada com a variável grupo (G1, G2 e G3) versus as variáveis selecionadas, onde nessas tabelas foi aplicado o teste de qui-quadrado como objetivo de analisar relações de dependência ou independência entre elas. Os dados obtidos foram submetidos a Análise de Correspondência Múltipla (ACM), e adotou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) com a associação entre as variáveis sociodemográficas e clínicas, onde dados considerados significativos foram os dentro do intervalo de confiança de 95%.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no *software R Studio Team (2020)*. *RStudio: Integrated Development for R*, PBC, Boston, MA versão 4.3.1, com o ambiente de desenvolvimento integrado através do desenvolvimento de *scripts* no *software RStudio*, por meio dos pacotes *stat* (função *chisc.test*) e pacote *ca* (função *ca*). Na avaliação do perfil da comunidade microbiana a partir do DNA metagenômico extraído dos espécimes respiratórios, a matriz binária foi avaliada no programa XLSTAT 2022.3.1.1340 (Addinsoft, França), pelo método de *Agglomerative 48 Hierarchical Clustering* (AHC). Posteriormente, foi construído um dendrograma de similaridade, considerando-se o coeficiente de Jaccard, pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages*) que utiliza médias aritméticas (não ponderadas) das medidas de dissimilaridade, o que evita caracterizar a dissimilaridade por valores extremos entre os objetos considerados com um *bootstrap* de 1000x para análise de agrupamentos (De Paula et al, 2018).

5. RESULTADOS

5.1 Características sociodemográfico e clínicas

A tabela 1. contem os dados sociodemográficos e clínicos dos três grupos de trabalho inseridos na pesquisa. Os resultados obtidos após a tabulação dos dados dos 118 participantes foram baseados em características sociodemográficas e clínicas dos 3 grupos sendo eles: G1 (SG por outras etiologias), G2 (COVID-19⁺ comunitários) e G3 (COVID-19⁺ hospitalizados). O levantamento dos dados supracitados mostrou que em G1, (58,9%) eram do sexo feminino e (41%) do sexo masculino, com uma média de idade de 39,6 anos. Já em G2, (65%) eram do sexo feminino e (35%) do sexo masculino com uma média de idade de 47,4. Por sua vez G3, (85,8%) eram do sexo feminino e (14,2%) do sexo masculino apresentando a maior média de

idade observada entre os 3 grupos participantes 50 anos.

Tabela 1 – Aspectos sociodemográficos e clínicos observados em indivíduos com síndrome gripal por outras etiologias

<i>Variáveis</i>	Síndrome Gripal (OE)	COVID (+) Comunitário	COVID (+) Hospitalar	Total	<i>n</i> = 118	<i>p</i>-Valor
Sexo						0,725
Feminino	23 (58,9%)	26 (65%)	22 (85,8%)	71		
Masculino	16 (41,0%)	14 (35%)	17 (14,2%)	47		
	39	40	39	118		
Faixa etária						0,054
Recém-Nascido	00 (0,0%)	1 (2,5%)	00 (0,0%)	1		
< de 60 anos	36 (92,3%)	30 (72,5)	28 (71,7%)	93		
> 60 anos	3 (7,6%)	10 (25%)	11 (28,3%)	24		
	39	40	39	118		
Escolaridade						2,8 ⁻⁶
Nível Fundamental	2 (5,1%)	6 (15%)	12 (30,7%)	20		
Ensino Médio	12 (30,7%)	9 (22,5%)	3 (7,6%)	24		
Nível Superior	17 (43,5%)	9 (22,5%)	9 (23%)	35		
Não Alfabetizado	1 (2,5%)	2 (5%)	2 (5,1%)	5		
Não informado	3 (7,6%)	7 (17,5%)	7 (17,9%)	17		
Ignorado	4 (10,2%)	7 (17,5%)	6 (15,3%)	17		
	39	40	39	118		
Vacina da Gripe						*0,013
Sim	28 (71,7%)	16 (40%)	15 (38,46%)	59		
Não	6 (15,3%)	16 (40%)	8 (20,5%)	30		
Ignorado	3 (7,6%)	7 (17,5%)	13 (33,3%)	23		
Não informado	2 (5,1%)	1 (2,5%)	3 (7,6%)	6		
	39	40	39	118		
Comorbidades						*<0,05
1 comorbidade	14 (35,8%)	5 (12,5%)	12 (30,7%)	31		
2 ou mais comorbidades	2 (5,1%)	10 (25%)	9 (23%)	21		
Sem comorbidades	21 (53,8%)	18 (45%)	9 (23%)	48		
Sem informação	2 (5,1%)	7 (17,5%)	9 (23%)	18		
	39	40	39	118		
Sintomas						*<0,05
Sintomas Respiratórios	14 (35,8%)	7 (17,5%)	11 (28,3%)	32		
Sintomas Não Respiratórios	3 (7,6%)	1 (2,5%)	0 (0,0%)	4		
Sintomas respiratórios / não respiratórios	7 (17,9%)	31 (77,5%)	27 (69,2%)	65		
Sem informação	5 (12,8%)	1 (2,5%)	1 (2,5%)	7		
Assintomático	10 (25,6%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	10		
	39	40	39	118		

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

*Variáveis com significância estatística ($p \leq 0,05$, ou, probabilidade menor ou igual a 5%).

A variável sexo assim como as demais inseridas nas análises, foram submetidas à análise estatística por meio dos testes não paramétricos do Qui-Quadrado, com nível de significância de 5% (p -valor $<0,05$). onde a variável sexo apresentou não apresentou significância estatística. A faixa etária em G1, foi composta por (92,3%) de indivíduos com idade $<$ de 60 anos e (7,6%) de $>$ 60 anos. Em G2, grupo composto por indivíduos com a COVID -19 comunitária, houve um recém-nascido (2,5%), único observado entre os três grupos, (72,5%) foram de indivíduos $<$ de 60 anos e (25%) indivíduos $>$ 60 anos. Em G3, manteve-se a tendência e predomínio de indivíduos $<$ de 60 anos com (71,7%), no entanto, obteve-se o maior percentual de idosos (28,3%) essa variável também não apresentou significância estatística.

A diferença da média de idade entre os grupos foi observada entres os indivíduos de G1 e G3 e não observada em G2 como mostra a tabela 2. Para todos os intervalos reais obtidos entre as médias das faixas etárias dos três grupos de trabalho, utilizou-se intervalo de confiança (IC) de 95%. Em G1 formou-se o intervalo real em torno das estimativas G1 [38,65; 39,35], em G2 [42,0;52,7] e G3 [44,6; 55,2], tais intervalos tem a probabilidade de 95% de conter o verdadeiro parâmetro da média das idades. Além disso, aplicou-se o teste de t de *student* para a igualdade das médias de idade de cada grupo com um nível de 5% de significância, onde em G2 e G3 não diferiram entre si.

Tabela 2- Média de idade x Sexo por grupo de trabalho.

	G1	G2	G3	<i>p</i> -valor
Feminino (%)	58,9	65	85,8	
Masculino (%)	41	35	25	*0,725
Média	39,7	47,4	50	

* Variável não significante(p -valor $>0,05$)

A escolaridade dos indivíduos variou entre os grupos. Em G1, os maiores percentuais observados se concentraram no nível superior (43,5%) e nível médio (30,7%), as informações ausentes e ignoradas foram (10,2%) e não informados (7,6%) respectivamente. Com os menores percentuais vistos no nível fundamental (5,1%), seguidos de não alfabetizados (2,5%).

Em G2, foi observado dados mais heterogêneos no quesito escolaridade, onde os percentuais observados se distribuíram em ordem de percentuais nos níveis médio e superior com (22,5%) seguidos de dados ausentes ou ignorados (17,5%), com os menores percentuais no nível fundamental (15%) seguidos dos não alfabetizados (5%). Por fim G3, predominou indivíduos com nível fundamental (30,7%) e nível superior (23%). Com (17,9%) de dados ausentes e (15,3%) de dados ignorados, com os menores percentuais no nível médio (7,6%) e

não alfabetizados onde esta variável foi outra também que não apresentou significância estatística com $p\text{-valor}>0,05$.

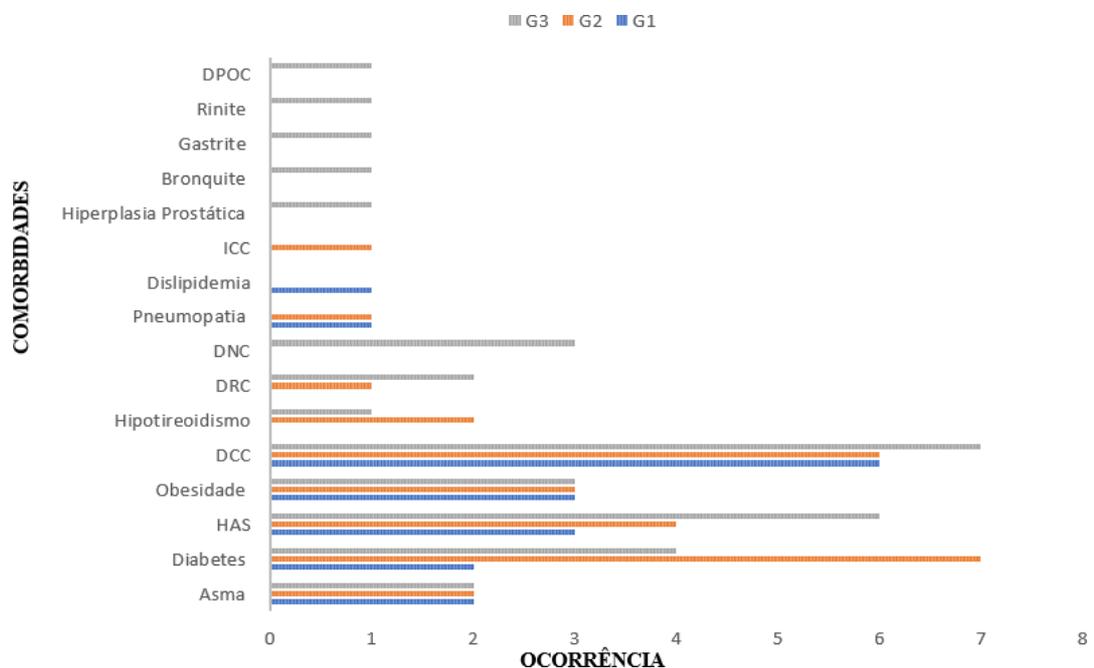
Em relação aos dados quanto a vacinação da gripe na última campanha, O grupo SG- por outras etiologias (G1) se mostrou o com maior taxa de imunização (71,7%) e com (15,3%) de não vacinados. Os dados ignorados e não informados foram (7,6 %) e (5,1%) respectivamente. G2 por sua vez, apresentou (40%) de vacinados e (40%) não vacinados, com percentuais de ignorados e não informados de (17,5%) e (2,5%). Em G3, grupo de indivíduos hospitalizados, observou-se a menor taxa de vacinação entre os três grupos, com (38,4%) de vacinados e (20,5%) de não vacinados, e o maior percentual de informações ignoradas e/ou ausentes (33,3% e 7,6%) e esta variável apresentou significância estatística.

As comorbidades foram triadas baseadas em indivíduos com 1 comorbidade, 2 ou mais comorbidades, sem comorbidades e sem informação. Em G1, foi visto o maior índice de indivíduos com apenas 1 comorbidade (35,8%) além do maior percentual de indivíduos saudáveis ou sem comorbidades (53,8%), e também os menores índices de informações ausentes e 2 ou mais comorbidades relatadas (5,1% e 5,1%). Em G2 o percentual de indivíduos saudáveis foi de (45%), o segundo maior que os observados nos demais grupos, com um aumento significativo de indivíduos com 2 ou mais comorbidades (25%) e o menor índice entre os três grupos (G1-G2 e G3) de indivíduos com 1 comorbidade (12,5%) com um aumento em relação a G1 de informações ausentes. No G3, (30,7 %) dos indivíduos apresentaram 1 comorbidade e (23%) com 2 ou mais comorbidades, sem comorbidades e sem informação. Nesse grupo, foi visto o menor índice de indivíduos saudáveis, o que pode explicar a internação dos mesmos.

O termo comorbidade se refere a quando um indivíduo apresenta 1 ou mais doenças de base diagnosticadas no momento da avaliação. De modo geral, as comorbidades incluem doenças crônicas, ou seja, que não têm cura, porém, passíveis são de controle. Entretanto, podem ser também questões de longo prazo, a exemplo de problemas transitórios, como o uso temporário de imunossuppressores ou tratamentos de neoplasias. Nos grupos analisados, foi observado em maior e menor ocorrência a existência de asma, diabetes, doença cardiovascular crônica - DCC, doença renal crônica -DRC, doença neurológica crônica – DNC, hipertensão arterial sistêmica- HAS, hipotireoidismo, obesidade, dentre outros.

O gráfico 1, detalha a ocorrência das comorbidades por grupo de trabalho, onde as condições observadas em todos os grupos foram asma, diabetes, HAS, obesidade e doença cardiovascular crônica. Houve ainda, comorbidades com pelo menos 1 caso, observados em G1 e G2, sendo: pneumopatia (não foi citado o tipo), dislipidemia e insuficiência cardiovascular crônica. Em G3 as de menor ocorrência foram hiperplasia prostática, bronquite, gastrite, rinite e doença pulmonar obstrutiva crônica – DPOC e esta variável foi outra dentre as quais, que apresentaram significância estatística.

Gráfico 1- Representação da oco Composição microbiana por grupo de trabalho.



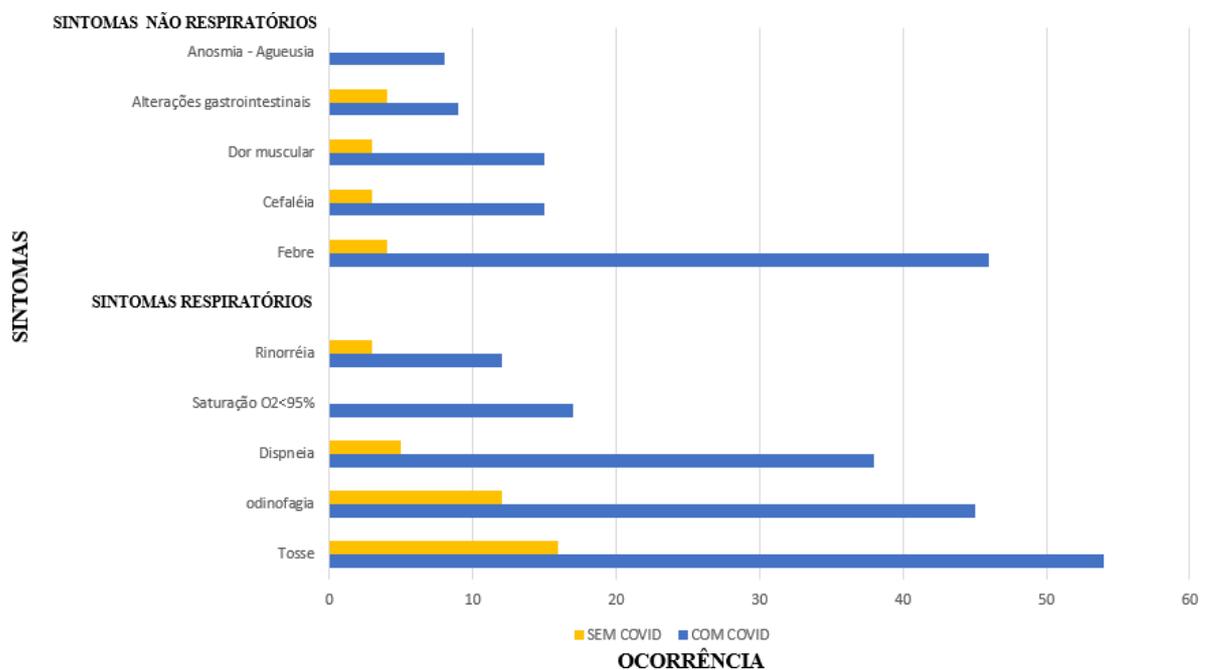
DPOC = Doença pulmonar obstrutiva crônica, ICC = Insuficiência cardiovascular crônica, DNC = Doença neurológica crônica, DRC = Doença renal crônica, DCC = Doença cardiovascular crônica e HAS= Hipertensãoarterial sistêmica.

Os dados de sintomas, foram alocados nas variáveis considerando indivíduos com: sintomas respiratórios, não respiratórios, sintomas respiratórios e não respiratórios, assintomáticos e informação ausente. Os sintomas respiratórios, apresentaram os maiores índices em G1(35,8%) seguido de G3 (28,3%) e o menor em G2 (17,5%). Houve menor ocorrência de indivíduos com sintomas não respiratórios em G1 (7,6%), G2 (2,5%) e ausência desses sintomas em G3. Quanto a presença de ambos, tanto sintomas respiratórios como não respiratórios foi visto em G2 (77,5%) e em G3 (69,2%) com G1 (17,9%) o menor percentual observado entre os três. Assintomáticos também foram observados com baixo percentual

(25,6%), e vistos somente em G1, assim como os dados ausentes vistos em G1, G2 e G3 (12,5%; 2,5% e 2,5%) respectivamente e esta variável também apresentou significância estatística com p -valor $<0,05$.

A partir de dados observados no gráfico 2., os sintomas respiratórios de maior ocorrência foram tosse, odinofagia e dispneia, saturação $O_2 < 95\%$, rinorreia e anosmia - ageusia. No entanto, anosmia – ageusia não foi observado em participantes com SG- por outras etiologias sendo um sintoma exclusivo de pacientes com infecção pelo SARS-CoV-2. Nos indivíduos com COVID-19 os sintomas supracitados foram mais presentes que nos indivíduos com síndrome gripal por outras etiologias. Os sintomas não respiratórios mais prevalentes foram febre, cefaleia, dor muscular e alterações gastrointestinais. Seguindo a mesma tendência dos sintomas respiratórios, observou-se que maioria dos sintomas citados foram observados nos indivíduos com COVID-19 que na síndrome gripal por outras etiologias.

Gráfico 2- Representação da ocorrência de sintomas clínicos em indivíduos com COVID-19 e síndrome gripal por outras etiologias.



* SG = Síndrome Gripal

Para representar a ocorrência dos sintomas observados como mostra o gráfico 2, optou-se por dividir os três grupos de trabalho, em apenas dois onde G1 se refere aos indivíduos com síndrome gripal por outras etiologias (n=39) e G2 e G3 a indivíduos positivos para COVID-19 (n=79).

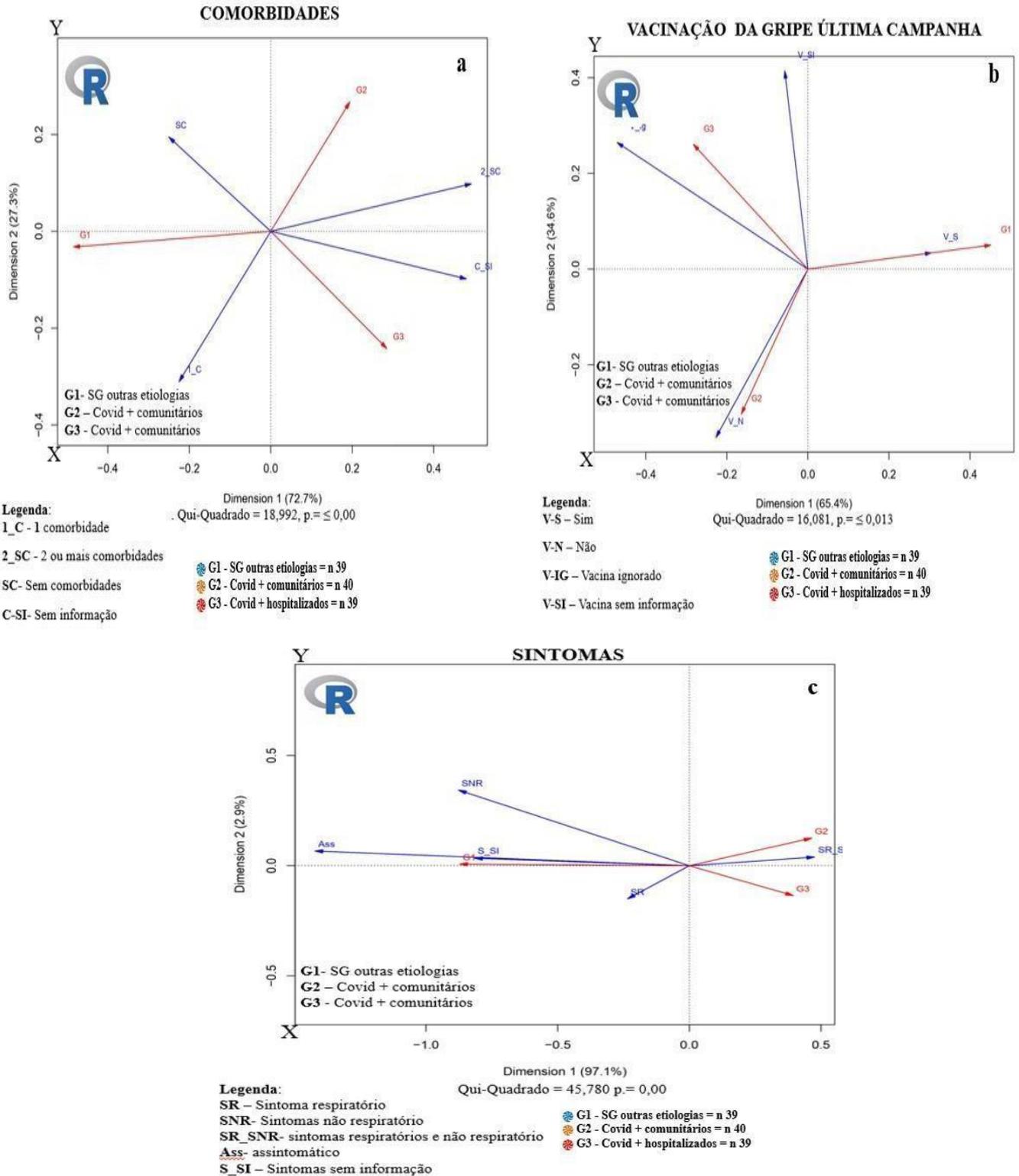
Para determinar se as variáveis são independentes, comparou-se o valor- p e observou-se o nível de significância analisado na tabela 1. A partir dos níveis de significância observados na tabela entre as variáveis inseridas nesse estudo, as que apresentaram -se com significância ($p < 0,05$) foram as variáveis vacinas da gripe (última campanha), comorbidades e sintomas onde serão avaliadas posteriormente através de análises multivariadas a fim de mensurar as distâncias inter-unidades e associações entre as mesmas. As demais, como: sexo, idade e escolaridade apresentaram $p > 0,05$ como não há evidências suficientes para concluir alguma associação não foram feitas análises de associação.

5.2 Análise de correspondência múltipla das variáveis sociodemográficas e clínicas

As variáveis analisadas através de tabelas de dupla entrada via método *biplot* foram as que obtiveram p -valor $< 0,05$ sendo elas: comorbidades, vacina da gripe (última campanha) e sintomas. Como mostra a figura 3(a), as associações entre indivíduos com duas ou mais comorbidades foram maiores em G2 (COVID + comunitários). No entanto, em G3 (COVID + hospitalizados) houve maior associação com informações de comorbidades ausentes e G1 (SG-outras etiologias) por sua vez, apresentou baixa associação e estabilidade com indivíduos sem comorbidades e ao menos uma comorbidade relatada.

Quanto aos resultados no que se refere a vacinação da gripe na última campanha expostos na figura 3(b), o G1 apresentou maior associação com indivíduos vacinados. G2 apresentou baixa associação com indivíduos não vacinados e G3 com informações faltantes. Referente aos sintomas a figura 3(c), G1 se associou aos participantes assintomáticos, com sintomas não respiratórios e os sem a informação relatada. Em G2 e G3 curiosamente houve uma alta associação a indivíduos tanto com sintomas respiratórios como não respiratórios.

Figura 3 – *Biplot* de análise multivariada (**a, b e c**) referentes a associação entre os grupos e as variáveis significantes - comorbidades, vacina da gripe na última campanha e sintomas. (p -valor $<0,05$)



5.3 Avaliação Comparativa Da Similaridade Da Estrutura Global Da Comunidade Bacteriana Por rep-PCR

O rep-PCR foi considerado neste estudo como um método independente de cultivo, usando o DNA total extraído das amostras provenientes de espécimes respiratórios dos participantes entre os três grupos trabalhados, a fim de analisar o perfil da comunidade microbiana entre os espécimes clínicos. O *Fingerprint* figura 6 (a). obtido após amplificação de fragmentos do genoma bacteriano onde os algoritmos de clusterização foram processados baseados no método hierárquico *Agglomerative 48 Hierarchical Clustering* (AHC), sendo gerado um conjunto de dados com uma estrutura hierárquica de acordo com a proximidade entre os indivíduos, tratados sob concordância do método de Jaccard. A análise foi mediada pelo método hierárquico aglomerativo, onde visou-se formar os *clusters* com a mínima distância interna possível, iniciando com cada padrão formando seu próprio agrupamento e de forma gradual. Os grupos são unidos até que um único agrupamento contendo todos os dados sejam gerados.

Com essa análise gerou-se três *clusters*, nomeados C1, C2 e C3, onde a partir das amostras contidas em cada grupo formou-se perfis baseados em amostras entre os três grupos trabalhados, sendo estes, agrupados por similaridade como mostra a figura 4(b).

Considerando-se o total de indivíduos (n=118) entre os 3 grupos de trabalho sendo G1 (n=39), G2 (n=40) e G3 (n=39). C1 agrupou (97,4%) dos indivíduos com COVID-19⁺ hospitalizados e (15,0%) dos indivíduos com COVID-19⁺ comunitários e SG por outras etiologias respectivamente; C2 agrupou (02,6%) COVID-19⁺ hospitalizados, (82,5%) COVID-19⁺ comunitários e (84,6%) SG – outras etiologias; enquanto C3 apresentou (02,5%) COVID-19⁺ comunitários. O *cluster* C1 é composto pela maioria dos indivíduos COVID-19⁺ hospitalizados (38 indivíduos) e apenas (6 indivíduos) em COVID-19⁺ comunitários e SG – outras etiologias, respectivamente. No agrupamento C2 houve uma menor representatividade dos indivíduos com COVID-19⁺ hospitalizados com um aumento expressivo de COVID-19⁺ comunitários (33 indivíduos) e COVID-19⁺ hospitalizados (32 indivíduos) em relação a C1; já C3 por sua vez, é um possível *outlier*, tendo em vista que os padrões agrupamento se diferenciam drasticamente de todos os outros onde obteve-se a menor distância na similaridade (42%) do que a observada nos grupos C1 e C2, onde apresentaram uma tendência (62 %) de similaridade mutuamente.

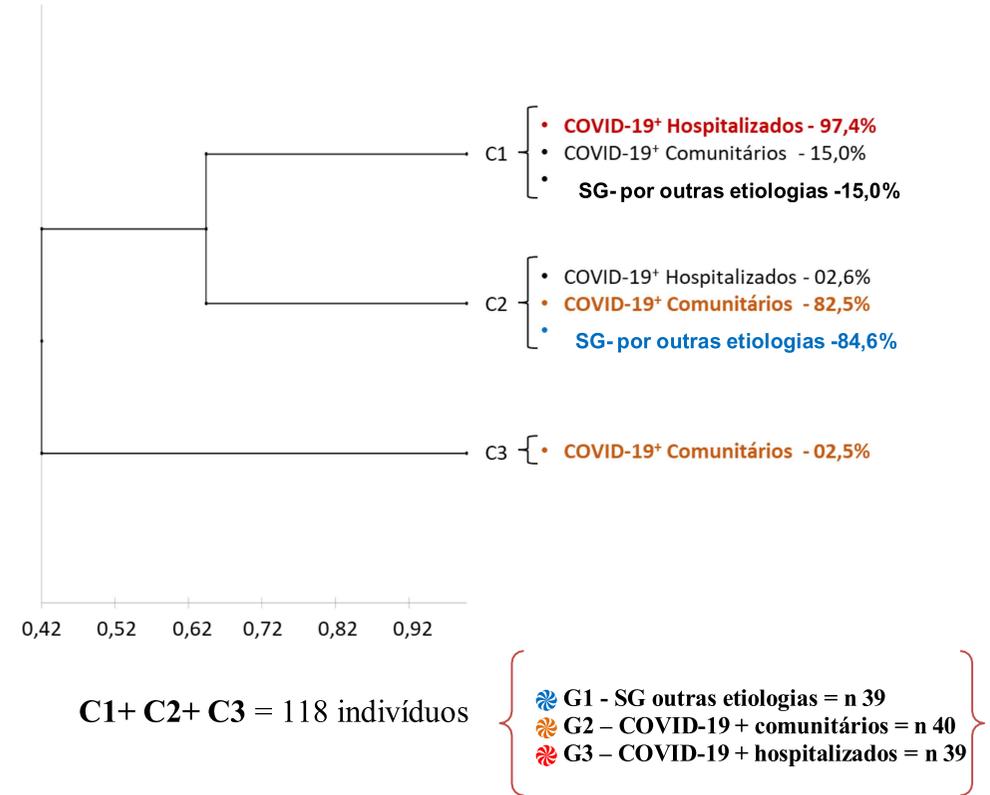
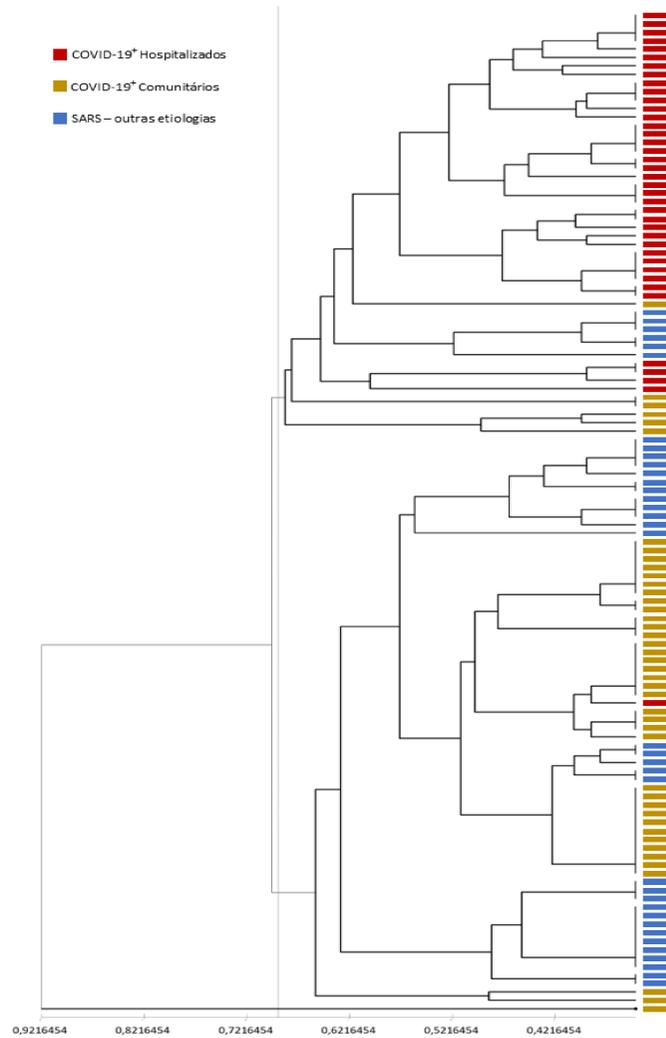


Figura 4(a) - Matriz de similaridade resultante da análise de agrupamento UPGMA com coeficiente de Jaccard, do *fingerprint* dos produtos de amplificação do DNA bacteriano, separada por eletroforese em de gel de poliacrilamida 6% a partir do metagenoma respiratório de indivíduos dos três grupos de trabalho. *Bootstrap* de 1000 réplicas

Figura 4(b) - Agrupamento dos indivíduos participantes desse estudo (G1, G2 e G3) de acordo com o perfil de bandeamento correspondente à região GTG'5, amplificadas a partir do DNA metagenômico extraído de amostras respiratórias separadas por eletroforese em de gel de poliacrilamida 6%.

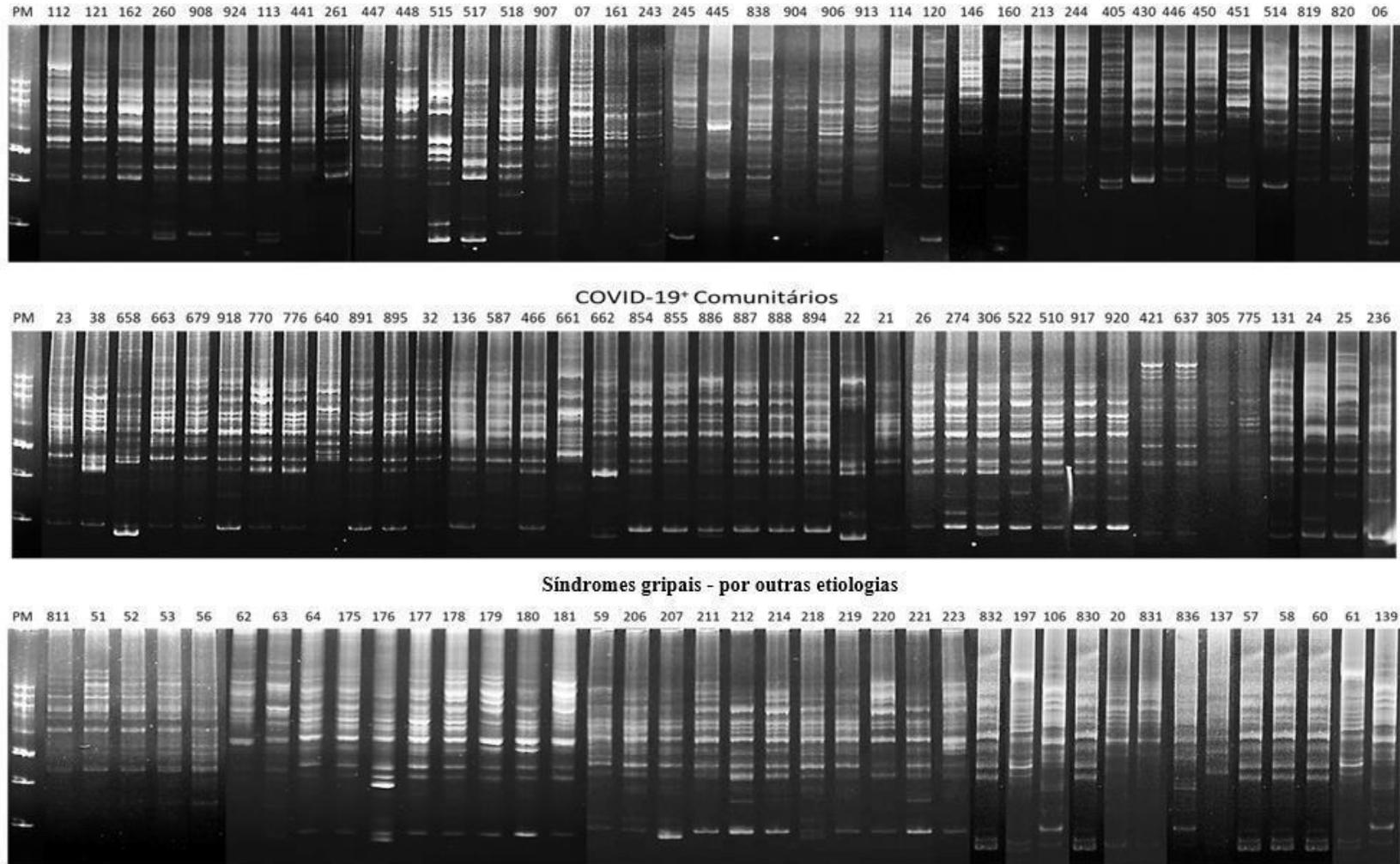


Figura 5 - *Fingerprint* obtido após amplificação de fragmentos do genoma bacteriano por rep-PCR a partir do DNA metagenômico extraído das amostras de orofaringe e nasofaringe dos pacientes entre os três grupos.

6. DISCUSSÃO

As amostras inseridas neste estudo foram obtidas nos primeiros meses da pandemia quando no Brasil circulava duas primeiras linhagens detectadas, denominadas B.1.1 e B.1.1.28. Essas amostras foram referentes aos meses de abril a julho de 2020, período compreendido entre 27/04/2020 a 01/07/2020. No Brasil, até o dia 26 de abril de 2020, foram confirmados 61.888 casos e 4.205 óbitos de COVID-19, no estado de Minas Gerais, foram registrados 86.128 notificações de COVID-19 com incidência de 56/1.000.000 habitantes.

A análise do primeiro boletim epidemiológico de Minas Gerais, datado de 26/04/2020 o perfil epidemiológico dos casos confirmados demonstrou que entre os 1548 casos confirmados, 770 eram do sexo masculino (49,7%) e 717 eram do sexo feminino (46,3%). Com a pandemia, foi observado um conjunto crescente de provas que examinaram o impacto da COVID-19 no sistema geniturinário masculino e na saúde geral dos homens. Os mecanismos destes efeitos ainda não foram totalmente elucidados, mas resultam provavelmente de múltiplos fatores (por exemplo, resposta inflamatória) e específicas (por exemplo dependentes de androgênios) (Dubin; Bennett; Halpern, 2020).

O percentual de homens é 2,4 vezes superior ao de mulheres entre os indivíduos com COVID-19, embora homens e mulheres tenham a mesma suscetibilidade, os homens são mais propensos ao óbito (Jin et al.,2020). Além de vivenciarem sintomas mais prolongados e sequelas pós-COVID-19, afetando amplos dimensões como a física, bioenergética e psicoemocional, com repercussões nas atividades da vida diária, na capacidade para o trabalho e em precariedades no cuidado da saúde (Santana et al., 2023).

Em relação à faixa-etária considerando o total de participantes incluindo os com ou sem COVID-19, 78,8% estavam entre 20 e 59 anos, onde os efeitos nocivos da idade, diante da infecção por COVID-19 nos idosos já foram comprovados, com comprometimento do sistema imune afetado pela idade, há uma deficiência nas funções de defesa com respostas imediatas a stresses fisiológicos internos e externos, a inflamação ocorrida nesses processos é geralmente causada pelo envelhecimento e senescência das células imunitárias. O fenômeno do *inflamm-aging*, que representa presença de mediadores inflamatórios sistêmicos no organismo dos idosos, provoca mais turbulências no sistema imunológico e reforça muitas doenças persistentes dos mesmos. Provocando ainda o enfraquecimento do sistema imune nas pessoas com o aumento da idade, também conhecido como imunossenescência. Esses estressores do sistema imunológico podem explicar a diferença na biologia inflamatória idades (Zinatizadeh et al., 2023).

Os dados epidemiológicos disponíveis na maioria dos países, referem diferenças entre homens e mulheres, quanto a gravidade da doença e maior mortalidade. E estudos *in vivo e in vitro* indicam que os homens respondem de forma diferente à infecção por SARS-CoV-2, oferecendo possíveis explicações para as observações epidemiológicas. As teorias plausíveis subjacentes a estas observações incluem diferenças relacionadas com o sexo nos receptores da enzima conversora da angiotensina 2, na função imunitária, hormonal, nos hábitos e nas taxas de coinfeção (Lipsky.;Hung,2020).

Em relação à faixa-etária, nos três grupos 20,3% eram indivíduos maiores de 60 anos. Foi observado por Zhang e colaboradores, 2023 uma disparidade dependente da idade na suscetibilidade e mortalidade por COVID-19 em indivíduos com mais de 70 anos, fato não visto em grupos etários mais jovens. Sobre os fatores de risco detectados nos pacientes que evoluíram para óbito,85% possuíam algum fator de risco, sendo predominante a hipertensão (30), diabetes (16), cardiopatia (12), pneumopatia (8), neoplasia (8), doença renal (8) e obesidade (3). Ressalta-se ainda que mais de um fator de risco pode estar presente no mesmo paciente. Estes números englobam também os casos leves notificados como Síndrome Gripal, que não se enquadram nos protocolos para coleta de exames laboratoriais e processamento via Biologia Molecular (RT-PCR). O primeiro caso confirmado em Minas Gerais foi no dia 09 de março de 2020, desde então, como esperado, o quantitativo aumentou exponencialmente.” Em Juiz de Fora – MG, os primeiros casos foram notificados no boletim do dia 26/03/2020 onde já haviam 201 casos suspeitos e 26 confirmados com 4 óbitos em investigação, e até 01/07/2020 foram reportados, segundo os boletins da secretária de Saúde da Prefeitura Municipal de Juiz de Fora, 8.217 casos suspeitos, 1.944 confirmados e 57 óbitos.

Os resultados das análises sociodemográficas e clínicas levantados nesse estudo mostraram que entre os 3 grupos trabalhados (G1, G2 e G3) o sexo mais prevalente entre os indivíduos foi o feminino, com índice de 58,9%,65% e 85,8% respectivamente. Apesar de não ter sido possível acompanhar o desfecho dos casos, avaliando evolução, alta e óbito dos participantes, o que permitiria inferir que o desfecho observado é relacionado a fatores referentes ao sexo dos indivíduos, alguns estudos já citam diferenças na evolução da doença em relação a indivíduos do sexo masculino e feminino.

Takahashi e colaboradores (2020), avaliaram o fenótipo imunitário numa amostra de doentes com COVID-19 e concluíram que o sistema imune afetado pela COVID-19 é consideravelmente diferente entre os sexos. Do ponto de vista epidemiológico, os homens são

mais propensos e vulneráveis à infecção por SARS-CoV-2 2,4 vezes mais do que as mulheres, devido às diferenças hormonais na expressão e distribuição da enzima de conversão da angiotensina 2 - ACE2 (Conti; Younes, 2020).

Entre os três grupos, predominaram indivíduos com idades inferiores a 60 anos com um aumento notável de idosos (> 60 anos) somente nos grupos de doentes com COVID-19 comunitários e hospitalizados. Numa doença infecciosa tão heterogênea como a COVID-19, os fatores do hospedeiro são a chave para determinar a gravidade e a progressão da doença (Wiersinga et al, 2020). Para a doença grave da COVID-19, os principais fatores de risco incluem a idade, o sexo masculino, obesidade, tabagismo e doenças crônicas, como a hipertensão, a diabetes mellitus tipo 2 e outras (Garibaldi et al., 2020; Wu et al., 2020; Zhou et al, 2020;). Com base em trabalhos prévios, nota-se que já está bem definido que a própria idade é o fator de risco mais significativo para a COVID-19 grave e os seus efeitos adversos na saúde (Zhang et al., 2023). No grupo G1, que compreende os indivíduos com SG por outras etiologias, o nível de escolaridade que mais predominou foi o nível médio e superior, com o maior percentual observado. Em G2 seguiu-se a mesma tendência do grupo anterior, com os percentuais predominando nas escolaridades médio e superior, com um percentual menor que G1. Em G3 a escolaridade de maior ocorrência foi ensino fundamental, com todos os grupos (G1, G2 e G3), apresentando uma baixa ocorrência de não alfabetizados.

Sabe-se que maus prognósticos relacionados a COVID-19 não são apenas uma consequência da infecção viral, mas também estão relacionados a uma resposta imune exacerbada incluindo a vasta liberação de citocinas pelo sistema imunológico, levando a inflamação descontrolada e falência de vários órgãos. Vários fatores de risco ou prognóstico, como fatores genéticos, comorbidades, idade, sexo e localização geográfica, foram associados à gravidade da COVID-19. Em relação à microbiota e patologia da COVID-19, estudos publicados se concentraram nas diferenças entre os pacientes com e sem COVID-, sugerindo um possível papel de proteção devido a microbiota intestinal e microbiota respiratória na suscetibilidade à infecção por SARS-CoV-2 (Marcialis; Bardanzellu; Fanos, 2020 e Yamamoto et al., 2021). Além disso, alguns estudos mostraram uma relação entre a composição da microbiota intestinal e a microbiota respiratória com a gravidade da doença, onde os níveis de citocinas e os marcadores inflamatórios em doentes com COVID-19 sugerem que o microbioma intestinal está envolvido na magnitude da gravidade da COVID-19, possivelmente através da modulação das respostas imunológicas do hospedeiro (Yeoh et al., 2021).

Esse relacionamento parece ser principalmente baseado na capacidade da microbiota de modular a resposta imune (Khatriwada; Subedi ,2020.), através da modificação do eixo intestino-pulmão e por alterar a expressão da enzima dos receptores conversão de angiotensina 2 (ACE2), que são usados pelo SARS-COV-2 para entrar nas células hospedeiras (Ahlawat; Asha Sharma, 2020; Koester et al., 2021).

Em relação aos dados quanto a vacinação da gripe na última campanha, o grupo SG- por outras etiologias (G1) se mostrou o com maior taxa de imunização em relação a G2 e G3, havendo maior associação com indivíduos vacinados. G2 por sua vez, apresentou maior ocorrência de indivíduos com e sem imunização, com uma maior associação a indivíduos não vacinados. Em G3, grupo de indivíduos hospitalizados, observou-se um maior percentual de indivíduos com idade superior a 60 anos além da menor taxa de vacinação entre os três grupos. A vacinação contra a influenza foi crucial para gerir a pandemia de COVID-19, protegendo significativamente contra a COVID-19 grave, hospitalização e morte sobretudo em indivíduos idosos (Zhang et al., 2023).

Estudos recentes sugerem que a vacinação prévia contra agentes patogénicos como a tuberculose e a gripe pode conferir alguma proteção contra a COVID-19 (O'connor et al ., 2020 ; Ragni et.al .,2020) .Uma análise de mais de 92.000 pacientes com COVID-19 num estudo feito no Brasil, constatou uma redução de 17% na probabilidade de mortalidade, 8% na probabilidade de necessidade de cuidados intensivos e 18% menos probabilidade de necessidade de suporte respiratório invasivo naqueles que receberam uma vacina contra a gripe (Fink et al., 2021).

Com a ausência da vacina, as medidas de contenção da pandemia de COVID-19 se basearam inicialmente em impor medidas de barreira, como o uso de máscaras e medidas de distanciamento social, já que em 2020 diante do caos, incerteza, ausência de tratamento e superlotação das unidades de saúde, a única esperança residiu no rápido desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o SARS-CoV-2 (Billon-Denis; Tournier,2020).

É imprescindível determinar os principais grupos de risco para qualquer doença, o que se acentua quando se trata de uma pandemia, principalmente para a tomada de decisão das autoridades. As doenças crônicas associadas são chamadas comorbidades, e se apresentam quando um paciente, durante a sua evolução, sofre de alguma doença de base (Nunes et al., 2020).

O entendimento de que as comorbidades influenciam negativamente nos resultados da COVID-19, tem sido reconhecida desde os primeiros dias da pandemia. No entanto, estabelecer a causalidade e determinar os mecanismos subjacentes e as implicações clínicas tem sido um

desafio, devido aos múltiplos fatores de confusão e à variabilidade dos doentes. Vários mecanismos patológicos distintos, não ativos em todos os doentes, determinam os resultados, em termos de saúde nas três diferentes fases da COVID-19 - desde a fase inicial de replicação viral até à lesão pulmonar inflamatória e às sequelas pós-agudas (Russel et al., 2023).

No que se refere ao nível de comprometimento da saúde em relação as doenças de base reconhecidas entre os indivíduos, G1 e G2 se associou menos a indivíduos sem comorbidades e com um pequeno percentual de indivíduos com alguma doença de base, onde apesar da alta ocorrência dessas observações, o fato de serem o grupo mais imunizado com a vacina da gripe, pode associar esses indivíduos a um menor impacto, seja em relação aos sintomas como a uma menor suscetibilidade a agravos e complicações. Apesar da alta associação dos indivíduos do grupo G3 a observação sem informação, como mostrou o biplot 4(c), houve alta ocorrência de indivíduos com 2 ou mais doenças de base, o que se junto ao fato de G3 ser o menos imunizado com a vacina da gripe, há uma tendência desse grupo ser o mais suscetível a agravos e internações, grupo este que apresentou menor índice de indivíduos saudáveis além de baixos percentuais de imunização, o que pode explicar os agravos e a necessidade de cuidados intensivos. Embora pequena a diferença em relação ao G2, o G3 foi o grupo com maior percentual de idosos.

As comorbidades de maior ocorrência observadas em todos grupos trabalhados foram: asma, diabetes, HAS, obesidade e doença cardiovascular crônica. A asma e obesidade apresentaram a mesma ocorrência em todos os grupos (G1, G2 e G3). A diabetes foi mais frequente em indivíduos do G2 que nos demais, a hipertensão por sua vez, ocorreu em todos os grupos (G1, G2 e G3) com maior ocorrência em indivíduos hospitalizados - G3. A doença cardiovascular crônica ou DCC, foi a comorbidade com maiores índices em todos os grupos.

Em consonância com os resultados supracitados, pesquisas já citaram em trabalhos prévios, que em quase metade dos doentes acometidos pela COVID-19 a hipertensão arterial sistêmica, diabetes e doença cardiovascular foram as comorbidades mais comuns. Ainda que este estudo tenha se observado a asma como uma comorbidade presente em todos os grupos, Ejaz e colaboradores (2020), citam que não há evidências de que a asma pode ser um potente fator de risco da COVID-19. No entanto, o risco de desenvolver a doença grave em pacientes com COVID-19 está associado a fumantes asmáticos, sobretudo, em indivíduos geriátricos.

Outro estudo realizado por Dounce - Cuevas e colaboradores (2023), cita que a relação entra a asma e COVID-19 ainda é controversa, enquanto por um lado há trabalhos que mencionam que a asma não se associa a uma maior gravidade da COVID-19, hospitalização, mortalidade ou pior prognóstico quando comparada com doentes sem asma, por outro observam

estudos que relacionam o uso corticosteroides em altas doses, usados para tratar a asma com o risco acrescido de morte relacionada com a COVID-19 em comparação com os doentes que tomavam corticosteroides em doses baixas ou médias.

A obesidade foi outra comorbidade comum em todos os grupos trabalhados, e não somente em grupos de indivíduos hospitalizados sob cuidados intensivos, como mostram trabalhos anteriores (Lighter et al., 2020; Simonnet et al., 2020). No entanto a obesidade foi reportada como um preditor de fator de risco para gravidade da COVID-19. Onde os indivíduos com obesidade tendem a apresentar um risco aumentado de hospitalização, submissão a ventilação mecânica e morte em comparação com indivíduos não obesos. E quase 3 anos desde que o SARS-CoV-2 foi identificado pela primeira vez, ainda não está claro a relação entre o aumento do risco da COVID-19 versus aumento da inflamação associada à obesidade (Hough; Wark, 2023).

Quanto aos sintomas, G1- (SG – por outras etiologias) apresentou as maiores ocorrências de sintomas respiratórios e indivíduos assintomáticos, com uma baixa associação a observação sem informação de sintomas como mostra o biplot da figura 4 (c). G2- (COVID + comunitários) obteve-se maior ocorrência de indivíduos com sintomas tanto respiratórios quanto não respiratórios, o que por sua vez teve maior associação a essa observação. G3 - (COVID + hospitalizados) apresentou maior ocorrência a indivíduos com sintomas tanto respiratório quanto não respiratório com maior associação a indivíduos com sintomas respiratórios. Os doentes que foram hospitalizados durante a prevalência da variante Gama. P1, demonstraram um risco maior, principalmente para sintomas como fadiga, dor abdominal, baixa saturação de oxigênio e dor de garganta, apresentando de fato, sintomas mais variados sendo eles tanto respiratórios como não respiratórios o que condiz com os resultados aqui apresentados (Hojo et al., 2023). Os doentes com COVID-19 apresentam diferentes graus de gravidade, e 80% deles têm uma infecção ligeira (Michelen; Jones; Stavropoulou, 2021). Cerca de 15% dos casos desenvolvem doença grave caracterizada por sintomas respiratórios graves com alterações pulmonares observadas em exames de imagem; 5% estão gravemente doentes, com insuficiência respiratória devido a SDRA, choque e/ou disfunção de múltiplos órgãos (Huang et al., 2020; Yang et al., 2020; Zhou et al., 2020). O estudo de Petry e colaboradores (2022), realizado na região sul do Brasil, mostrou que 80% dos indivíduos positivos, apresentaram ao menos 1 sintoma com uma média igual a 3 sintomas relatados, com uma forte associação a sintomas tanto respiratórios quanto não respiratórios. Como já se previa, assintomáticos só foram vistos em indivíduos do grupo G1, ou seja, naqueles sem infecção ativa pelo SARS-CoV-2. No entanto estudos apontam que os casos leves e assintomáticos da

COVID-19 também são responsáveis pela alta transmissão da doença (Bay et al., 2020; Huang et al., 2020; Wang et al., 2020; Zhonghua, 2020).

Os sintomas respiratórios de maior ocorrência foram tosse, odinofagia, dispneia, saturação $O_2 < 95\%$, rinorreia. E o sintoma neurológico anosmia – ageusia. Com anosmia – ageusia sendo um sintoma exclusivo de pacientes com infecção pelo SARS-CoV-2. Os sintomas não respiratórios mais prevalentes foram febre, cefaleia, dor muscular e alterações gastrointestinais. Tais sintomas, foram de maior ocorrência nos indivíduos com COVID-19 do que na síndrome gripal por outras etiologias. Trabalhos de revisão sistemática de Grant e colaboradores (2020), avaliaram a presença de sintomas relativos à COVID-19 em 9 países e identificaram a febre como o sintoma mais prevalente em adultos infectados, seguido por tosse e fadiga enquanto um estudo realizado no Brasil por Petry e colaboradores (2022), demonstrou maior prevalência de cefaleia, seguido por tosse e mialgia/artralgia. Os sintomas gastrointestinais estão presentes somente em metade dos doentes com COVID-19 aguda, persistem em até 6 meses após a COVID-19 em 10-25% dos doentes e são classificados como o sintoma mais incômodo em 11% de todos os doentes. O SARS-CoV-2, replica-se no intestino e a COVID-19 aguda está associada à alteração do microbioma intestinal (Greenberg; Chang, 2022).

Um fator que explique um o espectro de sintomas clínicos tão variados e com manifestações clínicas não ativas em todos indivíduos infectados, é o papel desempenhado pelo sistema imunológico do hospedeiro, onde uma resposta imune modulada contra o SARS-CoV-2 parece ser fundamental para a resolução da COVID-19. E as fases da doença parecem estar relacionadas à intensidade da resposta imune. Quando existe resposta imune adequada, os pacientes não progridem da fase I e ocorre resolução da infecção. À medida que existe uma resposta imune exacerbada, a doença vai evoluindo para as fases II e III. A forma leve ou (fase I) geralmente se caracteriza pela presença de sintomas gripais leves. A fase grave ou (fase II) é marcada por sintomas moderados com alguns traços de agravo sendo eles: dispneia, taquipneia, queda na saturação de oxigênio e infiltrado pulmonar ao raio X ou tomografia computadorizada de tórax, já os casos críticos ou de (fase III) apresentam sinais e sintomas conhecidos como preditores de mal prognósticos e óbito (Brandão et al., 2020).

Quanto aos demais sintomas observados, trabalhos anteriores, como o de Lu e colaboradores, (2020), onde realizaram uma metanálise, que envolvia a apresentação clínica referente a infecção pela COVID-19 em pacientes de diferentes estudos. Os principais sintomas foram: febre (88,3%); tosse (68,6%); mialgia ou fadiga (35,8%); expectoração (23,2%); dispneia (21,9%); cefaleia ou tontura (12,1%); diarreia (4,8%) e vômitos ou náuseas (3,9%),

dados referentes aos sintomas já investigados, que não diferem muito dos levantados nessa pesquisa. Junto a sintomas como odinofagia e rinorreia também vistos em trabalhos como o de Prado e colaboradores, (2020). Como já citado, anosmia – ageusia foi um sintoma visto somente em doentes pela COVID-19. A anosmia é uma ocorrência rara muito relatada no decurso da infecção pelo SARS CoV-2 e de outras infecções por coronavírus. No entanto, em indivíduos oligossintomáticos podem representar a primeira ou a única manifestação sintomatológica (De Haro et al., 2013; Suzuki et. al., 2007; Vaira et al., 2020). É interessante notar que, nos doentes com COVID-19, a ageusia e a anosmia não são acompanhadas de obstrução nasal ou de outros sintomas típicos do trato respiratório superior como a rinite (Yamagishi et al.,1994).

Os genomas microbianos contêm uma variedade de sequências de DNA repetitivas, que representam até 5% do genoma (Ussery et al., 2004). Muitos destes elementos de DNA repetitivos são de função desconhecida e foram localizados em regiões intergênicas e extragênicas do genoma microbiano. Dados recentes sugerem que alguns desses elementos repetitivos podem estar envolvidos na síntese ou catabolismo de RNA e DNA (Tobes; Ramos, 2005), ou serem mediadores da evolução do genoma (Schmidt; Anderson, 2006). Estes elementos repetitivos são tipicamente constituídos por genes duplicados, tais como os que codificam o rRNA e o tRNA, elementos de sequência de inserção, transposons, repetições de polinucleótidos curtos, elementos repetitivos em mosaico e outras sequências repetitivas ou palindrômicas (Sadowsky; Hur, 1998; Versalovic; Lupski, 1998).

As sequências repetitivas de DNA REP – “*Repetitive Extragenic Palindromic*” (Sequência Palindrômica Extragênica Repetitiva) estão amplamente distribuídos por muitos membros de bactérias filogeneticamente diversas (Sadowsky; Hur, 1998; Versalovic; Lupski,1998). A técnica de impressão digital de DNA por PCR (*polymerase chain reaction*), baseada em sequências repetitivas ou rep-PCR utiliza iniciadores que visam vários destes elementos repetitivos e é através da PCR que é gerado perfis de DNA únicos ou "impressões digitais" de espécies microbianas individuais. Embora esta técnica seja de baixa resolução, ela tem sido utilizada para examinar a diversidade entre uma variedade de microrganismos procarióticos, o *fingerprinting* de DNA por rep-PCR também pode ser aplicada à ecologia microbiana e a estudos de evolução microbiana, uma vez que tem o poder de distinguir microrganismos a nível de linhagem ou da espécie.

A análise estatística do perfil de bandejamento fornecido pelo rep-PCR permitiu que os indivíduos fossem agrupados em três *clusters*, de acordo com a similaridade entre os mesmos. A presença do *cluster* (C1) sugere um perfil composto majoritariamente por participantes G3 COVID⁺ hospitalizado grupo este que predominam indivíduos em sua maioria sexo feminino,

com idade inferior de 60 anos e baixo grau de instrução. No quesito vacinação da gripe na última campanha, o G3 foi o de menor taxa de imunização. Quanto as comorbidades, esse grupo apresentou altas taxas de comprometimento da saúde com 2 ou mais comorbidades relatadas, com o menor percentual de indivíduos saudáveis. A sintomatologia observada, foi predominantemente formada tanto sintomas respiratórios como: tosse, odinofagia e dispneia, saturação $O_2 < 95\%$, rinorreia e anosmia – ageusia e não respiratórios como: febre, cefaleia, dor muscular e alterações gastrointestinais, onde o grupo G3 apresentou alta ocorrência e variedade de sintomas ,fato só visto em G2. Da mesma forma em C2, um segundo *cluster* formado principalmente por indivíduos do grupo G1 (SG -por outras etiologias) e G2 (COVID⁺ - comunitários) indicando outro perfil característico. Em G1, predominaram indivíduos do sexo feminino, de faixa etária inferior a 60 anos, em sua maioria com alto grau de instrução, com a maior taxa de imunização da vacina da gripe observada, e dentre os 3 grupos o melhor percentual de indivíduos saudáveis com pouco sintomas apresentados, sendo eles em sua maioria sintomas gripais leves. O outro grupo também pertencente ao *Cluster*- C2 foi G2 (COVID⁺ - comunitários), com dados de sexo e idade igual aos demais grupos, com grau de instrução que variou entre nível médio e superior, apresentando também, o segundo maior percentual de imunização com vacina da gripe na última campanha. E entre os grupos de indivíduos com infecção ativa pela COVID-19, foi o que apresentou o maior percentual de pacientes saudáveis apesar da infecção ativa pelo SARS- CoV-2, no entanto, foram os que apresentaram maior variedade de sintomas, sendo eles tanto respiratórios e não respiratórios. O *cluster* C3 foi o de menor representatividade, com maior distância na similaridade e por se tratar de um possível *outliers* não foi avaliado.

Foram investigadas várias modificações da técnica padrão de rep-PCR para aumentar a exatidão, a reprodutibilidade e o rendimento e, ao mesmo tempo, diminuir o tempo, a mão de obra e os custos associados a esta tecnologia. No entanto, algumas fragilidades são observadas no que se refere a qualidade e a utilidade final das impressões digitais de DNA, geradas pela utilização do rep-PCR, sendo influenciadas sobretudo pela própria reação de PCR como pelos métodos utilizados para separar os amplicons (Chokesajjawatee; Zo; Colwell, 2008).

Diante das informações expostas, e considerando o desequilíbrio causado por ambas infecções, sejam elas no contexto da COVID-19 ou em síndromes respiratórias por outros vírus respiratórios, onde a partir de trabalhos como os de Bosch; Steenhuijsen, (2017), demonstrou-se que os vírus respiratórios comuns perturbam a homeostasia, a estrutura e a função das comunidades microbianas do trato respiratório superior (Bosch; Steenhuijsen , 2017; Petersen ; Round, 2014).

Sob a luz dos resultados dos dados sociodemográficos e clínicos aqui apresentados, tendo em vista que nesta pesquisa obteve-se mais participantes do sexo feminino, o que biologicamente as favorece, pois as mesmas possuem um potente antiviral natural muito eficiente na resistência a infecções virais, chamado estrogênio onde várias linhas de investigação demonstraram que o estrogênio apresenta propriedades antivirais. Onde Smith e colaboradores (2000) e Johansen e colaboradores (2013), identificaram um conjunto de moduladores seletivos dos receptores de estrogênio, incluindo o clomifeno e o toremifeno, que atuaram como inibidores da infecção viral. Junto a isso, sabe-se que as mulheres fazem escolhas de estilo de vida mais saudáveis do que os homens fumando e bebendo menos, tendo ainda, uma menor incidência das doenças (doenças cardíacas, diabetes ou doenças pulmonares crônicas) doenças conhecidas serem fatores significativos nas taxas de mortalidade mais elevadas entre os homens com COVID-19 (Pirhadl et al., 2020).

A faixa etária mais prevalente observada nesse estudo entre os 3 grupos trabalhados, foi marcada por uma maioria de indivíduos com idade inferior a 60 anos, o que não os coloca em um cenário de baixas respostas imune frente a infecções por patógenos reforçado pelo fator idade, tendo em vista o favorecimento do estado pró-inflamatório crônico do sistema imunológico relacionado com o envelhecimento, mediante ativação da resposta imune inata (Gao et al., 2021; Shaw et al., 2010). O próprio envelhecimento é um fator de risco proeminente para doenças graves e morte por COVID-19. E a hipótese é que o declínio relacionado com a idade e a desregulação da função imunitária, ou seja, a imunossenescência e a inflamação desempenham um papel importante na contribuição para uma maior vulnerabilidade a resultados graves de COVID-19 em nos adultos mais velhos (Chen et al., 2021).

A escolaridade de maior ocorrência entre os grupos G1 e G2 foi ensino médio e superior completo o que não os engloba como indivíduos com baixo grau de instrução. Estudos realizados por Abedi e colaboradores (2021), já citam possíveis associações entre baixo acesso educação, baixo níveis econômicos e necessidades especiais a um maior risco de infecção por COVID-19. Um trabalho realizado por Rodrigues (2022), onde associou-se a escolaridade e o modo como os participantes geriram o isolamento social onde foram eleitos os motivos da permanência ou da saída de suas residências, assim como as percepções a respeito desta atitude na prática. E partir dos dados coletados nesse estudo, foi possível sugerir que a escolaridade impacte a incorporação da informação científica assim como nas atitudes práticas diante da doença e não apenas o acesso a ela, o entendimento dela e o interesse por ela, como certo senso

comum supõe. Concluiu-se ainda, que as assimetrias escolares apresentem efeitos nos modos de gerir e de avaliar a prática preventiva mais decisiva nos primeiros meses da pandemia. E pessoas com maiores níveis de instrução, por possuírem melhor situação econômica, conseqüentemente conseguiram manter o isolamento social de forma mais adequada.

Com a longa pandemia causada pelo SARS-CoV-2 a vacinação eficaz contra a COVID-19 é a estratégia mais importante para induzir uma resposta imunitária protetora e pode, assim, ser a única forma de evitar a propagação da infecção e a progressão e a morte por esta doença (Hodgson et al., 2021).

Após a aprovação das vacinas contra a COVID-19 pela FDA – (*Food and Drug Administration*) dos EUA, a fobia quanto a procedimentos médicos causada pela desinformação sobre as doença e vacinas, foram os fatores determinantes da hesitação com relação aos imunizantes durante a pandemia da COVID-19. A desconfiança com a segurança da vacina, os efeitos colaterais negativos, o seu rápido desenvolvimento junto a incerteza quanto à sua eficácia foram associados uma maior relutância em ser vacinado (Adu et al., 2023). Com o intuito de conter as implicações decorrentes da COVID-19, hoje sabemos que a vacinação surgiu como uma forte aliada na prevenção de desfechos mais graves devido sua altamorbidade e mortalidade, sobretudo entre idosos, pela maior predominância das doenças crônicas e de fragilidade imunológica frente a infecção pelo SARS-CoV-2 (Filho et al., 2023).

Observou-se um alto índice de indivíduos sem comorbidades nos grupos G1 e G2, sendo estes, em sua maioria, saudáveis e menos predispostos aos agravos iminentes as infecções respiratórias. Considerando-se os indivíduos com infecção ativa pelo SARS CoV -2, G2 foi o menos acometido por comorbidades. Em G3, grupo hospitalizado, notou-se indivíduos mais acometidos por doenças de base, o que pode justificar a hospitalização. A presença de comorbidades pré-existentes é um fator que diminui a imunidade reduz a resistência à infecção pelo vírus, o que favorece lesão prévia de órgãos promovendo a progressão da COVID-19 (Gao et al., 2021; Wolf et al., 2021; Zheng et al., 2020).

A compreensão sobre o impacto das comorbidades na COVID-19 é norteada por dois objetivos principais: permitir a definição de prioridades para as intervenções necessárias como medidas preventivas, vacinação e tratamento precoce, e por aprofundar a compreensão da biologia subjacente à doença. Estes princípios refletem-se nas orientações de saúde pública que dão prioridade à vacinação de alguns grupos e nas orientações clínicas para a utilização de antivirais para evitar a evolução e gravidade sobretudo de pessoas com comorbidades específicas e idosos. Alguns fatores de risco revelam -se mecanismos que exacerbam os

processos de doença subjacentes reduzem a capacidade de um doente para lidar com as consequências prejudiciais desses processos (Russell; Lone ; Baille ,2023). Há estudos que citam o óbito como desfecho principal dos pacientes portadores de doenças crônicas não transmissíveis, notificados no primeiro ano da pandemia, sendo em maior número em pessoas com idade acima de 50 anos, do sexo feminino e portadoras de doenças cardiovasculares e com baixos percentuais relativos a alta (Durães et al., 2023).

O que pode explicar o agrupamento observado em C1, onde majoritariamente encontram-se os indivíduos hospitalizados, pode ser justamente pelo fato observado nesse *cluster* em que somente os participantes do grupo G3 (COVID⁺ hospitalizados), apresentaram a menor taxa de vacinação além do maior percentual de indivíduos com idade superior a 60 anos, fato não observado nos outros grupos e este motivo pode explicar o isolamento destes indivíduos em um único *cluster*. Onde ainda é visto, que esse agrupamento abriga indivíduos com pelo menos 1 comorbidade pré-existente, que apresentaram um maior impacto de sintomas por conta da doença características também observadas em G2. Indivíduos com esquema vacinal completo apresentaram maior sobrevida, reduziu-se a necessidade de internação em unidades de terapia intensiva e a mortalidade quando comparados a indivíduos não vacinados e com esquema vacinal incompleto. Nos indivíduos que mesmo vacinados, precisaram de hospitalização devido aos agravos COVID-19, o tempo de internação em UTI, e as taxas de mortalidade são menores que em indivíduos não vacinados. A imunização se consagra como a estratégia mais eficaz para controlar a propagação da infecção por SARS-CoV-2 e para reduzir o risco e gravidade da COVID-19, estudos já evidenciaram que a vacinação reduz as taxas de mortalidade da COVID-19, a gravidade da doença e o tempo de internação hospitalar (Dantas et., 2023).

O *cluster* C2 agrupou por similaridade indivíduos de G1 (SG-outras etiologias) e G2 (COVID⁺- comunitário), participantes em sua maioria com faixa etária inferior a 60 anos, com maior taxa de imunização da vacina da gripe quando comparado a G3 (COVID⁺-hospitalizado). Contudo, os indivíduos de G2 foram os que mais sofreram impacto por conta da sintomatologia observada, apresentando tanto sintomas respiratórios quanto não respiratórios, enquanto G1 apresentou sintomas mais respiratórios. Estes sintomas condizem com o quadro de doença ativa nesses indivíduos, onde aqueles com síndrome gripal apresentaram sintomas mais leves e os com COVID- 19 sintomas mais específicos desse tipo de infecção. Um fato curioso no agrupamento C2, é que ele agrupou justamente em sua maioria indivíduos mais saudáveis, imunizados e fora dos grupos de riscos relacionados a idade, fato que pode ser atribuído a fatores imunológicos do indivíduo.

Partindo do princípio que os 3 clusters gerados apresentam suas singularidades, é notável em C2 fatores em comum entre indivíduos de G1 (SG-outras etiologias) e G2 (COVID⁺ comunitários), apesar de cada um apresentar um agente etiológico viral diferente, eles são agrupados pelas particularidades vistas nesses grupos. Como por exemplo: maior taxa de imunização pela vacina da gripe na última campanha (2019), atrelado a um sistema imune pouco afetado pelas comorbidades pré-existentes, no entanto, uma variedade maior de sintomas observados como visto em G2, sintomas estes, tanto respiratórios quanto não respiratórios. Apesar de um maior espectro de sintomas, esses indivíduos apresentam uma maior prevalência de fatores protetivos contra a COVID-19, fatores esse que quando somados culminam com uma maior proteção contra a infecção e o desenvolvimento da COVID-19 grave além do aumento das citocinas anti-inflamatórias e a diminuição da expressão de ACE2 (Zhang et al., 2023).

De maneira geral a análise dos resultados deste estudo deve ser interpretada com cautela, pois a amostra contém somente os indivíduos sintomáticos e/ou aqueles que tiveram contato com indivíduos com suspeita ou teste positivo para SARS- CoV-2, que procuraram as unidades de saúde referencias em COVID-19 para realizar a testagem, e não a população infectada em sua totalidade. Além disso, não sabemos em que momento da doença os indivíduos realizaram a testagem, sendo possível que após este momento tenha surgido mais sintomas com agravamento de quadro clínico ou desfecho, fatores não avaliados por esse estudo.

7. CONCLUSÃO

- Idade avançada, presença de comorbidades e ausência de imunização recente para Influenza são fatores que predispõem hospitalização e agravamento do processo infeccioso. Dessa forma, esses fatores podem contribuir na geração de perfis heterogêneos na comunidade microbiana.
- Infecções respiratórias causadas por outros vírus que não o SARS-CoV-2 ocorridas durante os primeiros meses da pandemia da COVID-19 no Brasil, observou-se o predomínio de indivíduos do sexo feminino, com idade inferior a 60 anos (jovens), apresentando alto percentual de indivíduos com nível superior, maiores índices de imunizados contra a influenza e de indivíduos saudáveis (sem comorbidades), além de maior percentual de sintomas respiratórios.
- Os diferentes percursos da infecção observados, nas amostras trabalhadas provenientes da pandemia sob influência da mesma variante, podem ser explicados, por possíveis influências seja dos dados clínicos, da microbiota e do sistema imunológico do próprio hospedeiro.

8. REFERÊNCIAS

- ABEDI, V.; OLULANA, O.; AVULA, V.; CHAUDHARY, D.; KHAN, A.; SHAJOUEI, S.; LI, J.; ZAND, R. Racial, Economic, and Health Inequality and COVID-19 Infection in the United States. **J. Racial and Ethnic Health Disparities**, [s.l], v. 8, p. 732–742, Sep.2021.
- ABREU, N.A.; NAGALINGAM, N.A.; SONG, Y.; ROEDIGER, F.C.; PLETCHER, S.D.; GOLDBERG, A. N.; LYNCH, S. V. Sinus microbiome diversity depletion and *Corynebacterium uberculostearicum* enrichment mediates rhinosinusitis. **Sci Transl Med**, [s.l], v. 4, n.151, p.151ra124. Sep.2012.
- ABT, M.C.; OSBORNE, L.C.; MONTICELI, L.A.; DOERIG, T.A.; ALENGHAT, T.; SONNENBERG, G. F.; PALEY, M.A.; ANTENUS, M.; WILIAMS, K.L.; ERIKSON, J.; WHERRY, E. J.; ARTIS, D. Commensal bacteria calibrate the activation threshold of innate antiviral immunity. **Immunity**, [s.l], v 37, n.1, p.158–170, Jul.2012.
- ADLER, H.; BALL, R.; FISHER, M.; MORTIMER, K.; VARDHAN, M. S. Low rate of bacterial coinfection in patients with COVID-19. **Lancet Microbe**, [s.l], v.1, n.2, p. 62, Jun.2020.
- ADU, P.; POOPOLA, T.; MEDVEDEV, O. N.; COLLINGS, S.; MBINTA, J.; ASPIN, C.; SIMPSON, C. R. Implications for COVID-19 vaccine uptake: A systematic review. **J Infect Public Health**, [s.l], v.16, n.3, p.441-466, Mar.2023.
- AGGARWAL, G.; CHERUIYOT, I.; AGGARWAL, S.; WONG, J.; LIPPI, G.; CARL, J.; HENRY, B. M.; WONG, J.; SANCHIS-GOMARA, F. Association of Cardiovascular Disease with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Severity: A Meta-Analysis. **Curr Probl Cardiol**, [s.l], v.45, issue 8, p. 100617–100617, Aug.2020.
- AHLAWAT, S.; ASHA SHARMA, K.K. Immunological co-ordination between gut and lungs in SARS-CoV-2 infection. **Virus Res**, [s.l], v.286, p.198103, Sep.2020.
- ALVES, A.; SUCENA, I.; RIBEIRO, C.; SILVA, E.; SHIANG, T.; VANZELLER, M. Factors associated with colonization and infection by Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae. **Eur. Respir. J**, [s.l], v.52, p.A4702, Sep.2018.
- AMIN, D.; MCKITISH, K.; SHAH, P.S. Association of mortality and recent *Mycoplasma pneumoniae* infection in COVID-19 patients. **J Med Virol**, [s.l], v.93, p.1180-1183, Feb.2021.
- ANTON-VAZQUEZ, V.; CLIVILLÉ, R. Streptococcus pneumoniae coinfection in hospitalised patients with COVID-19. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, [s.l], v. 40, n.6, p.1353-1355, Jun.2021.
- APPAK, O.; DUMAN, M.; BELET, N.; SAYINER, A. A. Viral respiratory infection diagnosed by multiplex polymerase chain reaction in pediatric patients. **Journal of Medical Virology**, [s.l], v. 91, n. 5, p. 731-737, May.2019.

- BAI, Y.; YAO, L.; WEI, T.; TIAN, F.; JIN, D.Y.; CHEN, L.; WANG, M. Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. **JAMA**, [s.l], v. 323, n.14, p. 1406-07, Apr. 2020.
- BAJANTRI, B; VENKATRAM, S.; DIAZ-FUENTES, G.M. *Pneumoniae*: a potentially severe infection. **J Clin Med Res**, [s.l], v. 10, p.535-544, Jul.2018.
- BANERJEE, A; DOXEY, A.C.; MOSSMAN, K.; IRVING, A.T. Unraveling the zoonotic origin and transmission of SARS-CoV-2. **Trends in Ecology & Evolution**, [s.l], v.36, n. 3, p. 180-184, Mar.2021.
- BASSETTI, M.; VENA, A.; CROXATTO, A.; RIGHI, E.; GUERY, B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Drugs Context**, [s.l], v. 7, p. 212527, May.2018.
- BAUM, A.; FULTON, B.O.; WLOGA, E.; COPIN, R.; PASCAL, K. E.; RUSSO, V.; GIORDANO, S.; LANZA, K.; NEGRON, N.; NI, M.; WEY, Y.; ATWAL, G. S.; MURPHY, A.; STAHL, N.; YANCOPOULOS, G.D.; KYRATSOUS, C.A. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. **Science**, [s.l], v.369, n.6506, p.1014-8, Jun. 2020.
- BELKAID, Y.; HAND, T. W; Role of the microbiota in immunity and inflammation. **Cell**, [s.l], v.157, n.1, p.121–141, Mar.2014.
- BERGELSON, J. M ,(2009). Intercellular junctional proteins as receptors and barriers to virus infection and spread. **Cell Host Microbe**. [s.l], v.5, p.517–521. 2009.
- BERGHÖFER, B.; FROMMER, T.; HALEY, G.; FINK, L.; BEIN, G.; HACKSTEIN, H. GTLR7 ligands induce higher IFN- α production in females. **J. Immunol**, [s.l], v.177, p.2088–2096, Aug.2006.
- BILLON-DENIS, E.; TOURNIER, J.N. COVID-19 et vaccination: une dérégulation globale. **Médecine/sciences** [s.l], v.36, n.11, p.1034–1037, Nov.2020.
- BIZOT, E.; BOUSQUET, A.; CHARPIÉ, M.; COQUELIN, F.; LEFEVRE, S.; LORIER, J.L.; PATIN, M.; SÈE, P.; SARFATI, E.; WALLE, S.; VISSEAU, B.; BASMACI, R. Rhinovirus: a narrative review on its genetic characteristics, pediatric clinical presentations, and pathogenesis. **Front Pediatr**, [s.l], v.9, p. 643219, Mar.2022.
- BOECHAT, J.L.; WANDALSEN, G.F.; KUSCHNIR, F.C.; DELGADO, L. COVID-19, and pediatric asthma: clinical and management challenges. **Int J Environ Res Public Health**, [s.l], v.18, n.3, p.1093, Feb.2021.
- BOSCH, A.; DE STEENHUIJSEN PITERS, W.A.A.; VAN HOUTEN, M.A.; CHU, M.; BIESBROEK, G.; KOOL, J.; PERNET, P.; DE GROOT, P.K.C.M.; EIJKEMANS, .M.J.C.; KEIJSER, B.J.F.; SANDERS, E.A.M; BOGAERT, D. Maturation of the infant respiratory microbiota, environmental drivers, and health consequences. A prospective cohort studies. **Am J Respir Crit Care Med**, [s.l], v.196, p.1582–1590, Dec.2017.

BRANCHE, A.R.; FALSEY, A.R. Parainfluenza virus infection. **Semin Respir Crit Care Med**, [s.l], v.37, p.538–554, Aug.2016.

BRANDÃO, S.C.S.; GODOI, E.T.A.M.; RAMOS, J. de O.X.; MELO, L.M.M.P de.; SARINHO, E.S.C. COVID-19 grave: entenda o papel da imunidade, do endotélio e da coagulação na prática clínica. **J vasc bras**, [s.l], v.19, p. e20200131, 2020.

BROWN, R. J.; NGUIPDOP-DJOMO, P.; ZHAO, H.; STANFORD, E.; SPILLER, O. B.; CHALKER, V. J. Mycoplasma Pneumoniae Epidemiology in England and Wales: A National Perspective. **Front. Microbiol**, [s.l], v.7, p.157, Fev.2016.

BRUCE, C. S; HOARE, C.; MUKHERJEE, A.; PAUL, S.P. Managing acute respiratory tract infections in children. **British Journal of Nursing**, [s.l], v. 26, n. 11, p. 602-609, Jun.2017.

CALCAGNO, A.; GHISSETTI, V.; BURDINO, E.; TRUNFIO, M.; TIZIANO, A.; BOGLIONE, L; BONORA, S.; PERRI, G.D. Co-infection with other respiratory pathogens in COVID-19 patients. **Clinical Microbiology and Infection**, [s.l], v. 27, Issue 2, p. 297- 298, Feb.2021.

CANDIDO, D. S.; CLARO, I. M.; DE JESUS, J. G.; SOUZA, W. M.; MOREIRA, F. R. R.; DELLICOUR, S.; MELLAN, T. A.; DU PLESSIS, L.; PEREIRA, R. H. M.; SALES, F. C. S.; MANULI, E. R.; THÉZÉ, J.; ALMEIDA, L.; MENEZES, M. T.; VOLOCH, C. M.; FUMAGALLI, M. J.; COLETTI, T. M.; DA SILVA, C. A. M.; RAMUNDO, M. S.; AMORIM, M. R.;...FARIA, N. R. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. **Science (New York, N.Y.)**, [s.l], v.369, n.6508, p.1255–1260, Sep.2020.

CAUSSY, C.; PATTOU, F.; WALLET, F.; SIMON, C.; CHALOPIN, S.; TELIAM, C.; MATHIEU, D.; SUBTIL, F.; FROBERT, E.; ALLIGIER, M.; DELAUNAY, D.; VANHEMS, P.; LAVILLE, M.; JOURDAIN, M.; DISSE, E. Prevalence of obesity among adult inpatients with COVID-19 in France. **lancet Diabetes & Endocrinology**, [s.l], v.8, p. 562–564, Jul.2020.

CARTY, M.; GUY, C.; BOWIE, A.G. Detection of Viral Infections by Innate Immunity, **Biochemical Pharmacology**. [s.l], v. 183, p. 114316, Jan.2021.

CDC: SARS-CoV-2 variant classifications and definitions. Disponível em: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html#anchor_1632158885160. Acessado em 9 de outubro, 2022.

CHADHA, K.C.; AMBRUS JR, J.L; DEMBINSKI, W.; AMBRUS, J. L SR. Interferons and interferon inhibitory activity in disease and therapy. **Exp Biol Med**, [s.l], v. 229, p.285-90, Apr.2004.

CHAILLON, A.; SMITH, DM. Phylogenetic analyses of SARS-CoV-2 B117 lineage suggest a single origin followed by multiple exportation events versus convergent evolution. **Clin Infect Dis**. [s.l], v.16, n.73, i,12, p.2314-2317 Dec.2021.

CHAKRABORTY, S.; MALLAJOSYULA, V.; TATO, C.M.; TAN, G.S.; WANG, T. T. SARS-CoV-2 vaccines in advanced clinical trials: where do we stand? **Adv Drug Deliv Rev**, [s.l], v.172, p.14–338, May. 2021.

CHAN, J.F.W.; YUAN, S.; KOK, K.H.; TO, K.K.W.; CHU, H.; YANG, J.; XING, F.; LIU, J.; YIP, C.CY.; POON, R.WS.; TSOI, H.W.; LO, S.KF.; CHAN, KH.; POON, V.KM.; CHAN, WM.; IP, J.D.; CAI, J.P.; CHENG, V.CC.; CHEN, H.; HUI, C.KM.; YUEN, KY. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **Lancet**, [s.l], v.5, n.395(10223), p.514-523, Feb.2020.

CHEN, Q.; ZHENG, Z.; ZHANG, C.; ZHANG, X.; WU, H.; WANG, J.; WANG, S.; ZHENG, C. Clinical characteristics of 145 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Taizhou, Zhejiang, China. **Infection**, v.48, n.4, p.543-551, Aug.2020.

CHEN, T.L.; LEE, Y.T.; KUO, S.C.; YANG, S.P.; FUNG, C.P.; LEE, S.D. Rapid identification of *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter nosocomialis*, and *Acinetobacter pittii* with a multiplex PCR assay. **J. Med. Microbiol**, [s.l], v. 63, p.1154–1159, Sep.2014.

CHEN, Y.; KLEIN, S.L.; GARIBALDI, B.T.; LI, H.; WU, C.; OSEVALA, N.M.; LI, T.; MARGOLICK, J.B.; PAWELEC, G.; LENG, S.X. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. **Ageing Res Rev**, [s.l], v.65, p.101205, Jan.2021.

CHEN, Y.; ZHAO, X.; ZHOU, H.; ZHU, H.; JIANG, S.; WANG, P. Broadly neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. **Nat Rev Immunol**, [s.l], v.23,n.3, p.189-199, Mar.2023.

CHEN, J.; WANG, R.; GILBY, N.B.; WEI, G.W. Omicron variant (B.1.1.529): infectivity, vaccine breakthrough, and antibody resistance. **ArXiv**. [s.l], v.2112 p. 01318v1, Dec.2021.

CHEUNG, G.Y.C.; BAE, J.S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, [s.l], v.12, n.1, p.547-569, Dec.2021.

CHOKESAJJAWATEE, N.; ZO, Y.G.; COLWELL, R.R. Determination of clonality and relatedness of *Vibrio cholerae* isolates by genomic fingerprinting, using long-range rep- PCR. **Appl Environ Microbiol**, [s.l], v.74, n.17, p.5392-401, Sep.2008.

CHOMEL, B. B.; BELOTTO, A.; MESLIN, F.X. Wild animals, exotic pets and emerging zoonoses. **Emerging Infections Diseases**, [s.l], v.1, n.13, p.16-11, Jan. 2007.

CHOI, J.Y.; SMITH, D.M. SARS-CoV-2 Variants of Concern. **Yonsei Med J**. [s.l], v.62, n 11, p.961-68.

CONTI, P.; YOUNES, A. Coronavirus COV-19/SARS-CoV-2 affects women less than men: clinical response to viral infection. **J Biol Regul Homeost Agents**, [s.l], v.34, n.2, p.339-343, 2020.

CORMAN, V.M.; LANDT, O.; KAISER, M.; MOLENKAMP, R.; MEIJER, A.; CHU, D.KW.; BLEICKER, T.; BRUNINK, S.; SCHNEIDER, J.; SCHMIDT, M.L.; MULDER, D.G.; HAAGMANS, B.L.; VEER, B.V.D.; VAN DEN BRINK, S.V.D; WIJSMAN, L.; GODERSKI, G.; ROMETTE, J.L.; ELLIS, J.; ZAMBON, M.; PEIRIS, M.; GOOSSENS, H.; REUSKEN, C.; KOOPMANS, M.PG.; DROSTEN, C. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. **Euro Surveill**, [s.l], v.25, n.3, p.2000045,Jan.2020.

COSGAYA, C.; MARI-ALMIRALL, M.; VAN ASSCHE, A.; FERNANDEZ-ORTH, D.; MOSQUEDA, N.; TELLI, M.; HUYS, G.; HIGGINS, P.G.; SEIFERT, H.; LIEVENS, B.; ROCA, I.; VILA, J. *Acinetobacter dijkschoorniae* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, [s.l.], v.66, p. 4105–4111, Oct.2016.

COSTELLO, E.K.; LAUBER, C.L.; HAMADY, M.; FIERER, N.; GORDON, J.I.; KNIGHT, R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. **Science**, [s.l.], v.326, n.5960, p1694–1697, Dec.2009.

COX, N.J.; SUBBARAO, K. Influenza. **Lancet**, [s.l.], v.354, p.1277–1282, 1999.

CUI Z, LIU P, WANG N, WANG L, FAN K, ZHU Q, WANG K, CHEN R, FENG R, JIA Z, YANG M, XU G, ZHU B, FU W, CHU T, FENG L, WANG Y, PEI X, YANG P, XIE XS, CAO L, CAO Y, WANG X. Structural and functional characterizations of infectivity and immune evasion of SARS-CoV-2 Omicron. **Cell**. [s.l.], v.3, n.185, issue. 5, p.860-871.e13. Mar.2022.

CZEKAJ, T.; CISZEWSKI, M. *Klebsiella pneumoniae* NDM—New emerging superbacteria. **Med. Rodz**, [s.l.], v.1, n. 18, p 23-27, Jan.2015.

DAVID, L.A.; MATERNA, A.C.; FRIEDMAN, J.; CAMPOS-BAPTISTA, M.I.; BLACKBURN, M.C.; PERROTTA, A.; ERDMAN, S.E.; ALM, E. J. Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. **Genome Biol**, [s.l.], v.15, n.7, p.R89, 2014.

DAVIES, N.G.; ABBOTT, S.; BARNARD, R.C.; JARVIS, C.I.; KUCHARSKI, A.J.; MUNDAY, J.D.; PEARSON, C.A.B.; RUSSELL, T.W.; TULLY, D.C.; WASHBURNE, A.D.; WENSELEERS, T.; GIMMA, A.; WAITES, W.; WONG, K.L.M.; VAN ZANDVOORT, K.; SILVERMAN, J.D.; CMMID COVID-19 WORKING GROUP.; COVID-19 GENOMICS UK (COG-UK) CONSORTIUM; DIAZ-ORDAZ, K.; KEOGH, R.; EGGO, R.M.; FUNK, S.; JIT, M.; ATKINS, K.E.; EDMUNDS, W.J. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. **Science**. [s.l.], v.372, p.eabg3055, Apr. 2021.

DE HARO-LICER, J.; ROURA-MORENO, J.; VIZITIU, A.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, A.; GONZÁLEZ-ARES, J.A. Long term serious olfactory loss in cold and/or flu. **Acta Otorrinolaringol Esp**, [s.l.], v.64, n. 5, p. 331–338, Sep- Oct 2013.

DE LEEUW, A.J.M.; OUDE LUTTIKHUIS, M.A.M, WELLEN, A.C.; MÜLLER, C.; CALKHOVEN, C.F. Obesity and its impact on COVID-19. **J Mol Med (Berl)**, [s.l.], v 99,n.7, p.899-915, Jul.2021.

DEN HOOGEN, B.G.V.; DE JONG, J.C.; GROEN, J.; KUIKEN, T.; DE GROOT, R.; FOUCHIER, R.A.; OSTERHAUS, A.D. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. **Nat Med**, [s.l.], v. 7, n.6, p.719-24. Jun.2001.

DENG, X.; GARCIA-KNIGHT, M. A.; KHALID, M. M.; SERVELLITA, V.; WANG, C.; MORRIS, M. K.; SOTOMAYOR-GONZÁLEZ, A.; GLASNER, D. R.; REYES, K. R.; GLIWA, A. S.; REDDY, N. P.; SANCHEZ SAN MARTIN, C.; FEDERMAN, S.; CHENG, J.;

BALCEREK, J.; TAYLOR, J.; STREITHORST, J. A.; MILLER, S.; SREEKUMAR, B.; CHEN, P. Y.; ... CHIU, C. Y. Transmission, infectivity, and neutralization of a spike 1452r sars-cov-2 variant. **Cell**. [s.l], 2021; v. 184, p.3426–3437, Jun.2021.

DESINGU, PA.; NAGARAJAN, K. Omicron BA.2 lineage spreads in clusters and is concentrated in Denmark. **J Med Virol**. [s.l], v. 94, n.6, p. 2360-2364, Jun.2022.

DHAMA, KULDEEP.; NAINU, F.; FREDIANSYAH, A.; YATOO, M. L.; MOHAPATRA, R. K.; CHAKRABORTY, S.; ZHOU, H.; ISLAM, M-D. R.; MAMADA,S.S.; HENDRIX, I. K.; RABAAN, A.A.; ALHUMAID, S.; AL MUTAIR, A.; IQHRAMMULLAH, M.; AL-TAWFIQ, J.A.; AL MOHAINI, M.; ALSALMAN, A.J.; TULI, H. S.; CHAKRABORTY, C.; HARAPAN, H. Global emerging Omicron variant of SARS-CoV-2: Impacts, challenges and strategies. **J Infect Public Health**, [s.l], v.16, n.1, Jan. 2023.

DIJKSHOORN, L.; NEMEC, A. The diversity of the genus *Acinetobacter*. In **Acinetobacter Molecular Biology**, [s.l], 1 ed, p. 1–34 ,2008.

DUBIN J.M.; BENNETT, N.E.; HALPERN, J.A. The adverse impact of COVID-19 on men's health. **Curr Opin Urol**, [s.l] v. 1;32, n. 2, p.146-151, Mar .2022.

DOCHERTY, A.B.; HARRISON, E, M.; GREEN, C.A.; HARDWICK, H, E.; PIUS, R.; NORMAN, L.; HOLDEN, K, A.; READ, J, M.; DONDELINGER, F.; CARSON, G.; MERSON, L.; LEE, J.; PLOTKIN, D.; SIGFRID, L.; HALPIN, S.; JACKSON, C.;GAMBLE, C.; HORBY, P.W.; NGUYEN-VAN-TAM, J.S.; HO, A.; RUSSELL, C.D.; DUNNING, J.; OPENSHAW, P.J.; BAILLIE, J.K.; SEMPLE, M.G.; ISARIC4C INVESTIGATORS. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: Prospective observational cohort study. **BMJ**, [s.l], v. 22,369, n.1985, May.2020.

DOMINGUEZ, S.R.; ROBINSON, C.C.; HOLMES, K.V. Detection of four human coronaviruses in respiratory infections in children: a one-year study in Colorado. **J Med Virol**, [s.l], v.81, p.1597–1604, Sep.2009.

DOUNCE-CUEVAS, C.A.; FLORES-FLORES, A.; BAZÁN, M.S.; PORTALES- RIVERA, V.; MORELOS-ULÍBARRI, A.A.; BAZÁN-PERKINS, B. Asthma and COVID- 19: a controversial relationship. **Virol J**, [s.l], v.720 n. 1, p.207 Sep.2023.

DURÃES, Y. X.; ALVES, J. M.; ABREU, L. K. S.; OLIVEIRA, T. F. DE.; WESLEY, M. Desfecho de pacientes portadores de Doenças Crônicas não Transmissíveis que testaram positivo para COVID-19. **Saúde Coletiva (Barueri)**, [s.l], v. 13, n. 85, p.12750–12759, Sep. 2023.

EJAZ, H.; ALSRHANI, A.; ZAFAR, A.; JAVED, H.; JUNAID, K.; ABDALLA, A.E.; ABOSALIF, K.O.A.; AHMED, Z.; YOUNAS, S. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. **J Infect Public Health**, [s.l], v.13, n.12, p.1833- 1839, Dec.2020.

FARIA, N. R.; MELLAN, T. A.; WHITTAKER, C.; CLARO, I. M.; CANDIDO, D. D. S.; MISHRA, S.; CRISPIM, M. A. E.; SALES, F. C. S.; HAWRYLUK, I.; MCCRONE, J. T.; HULSWIT, R. J. G.; FRANCO, L. A. M.; RAMUNDO, M. S.; DE JESUS, J. G.; ANDRADE,

P. S.; COLETTI, T. M.; FERREIRA, G. M.; SILVA, C. A. M.; MANULI, E. R.; PEREIRA, R. H. M.; ... SABINO, E. C. Genomics and epidemiology of the p.1 sars-cov-2 lineage in Manaus, Brazil. **Science**. [s.l], v.372, p.815–821 May.2021.

FINTELMAN-RODRIGUES, N.; DA SILVA, A.P.D.; DOS SANTOS, M.C.; SARAIVA, F.B.; FERREIRA, M.A.; GESTO, J.; RODRIGUES, D.A. S.; VALE, A.M.; DE AZEVEDO, I.G.; SOARES, V.C.; JIANG, H.; TAN, H.; TSCHOEKE, D. A.; SACRAMENTO, S.Q.; BOZZA, F.A.; MOREL, C.M.; BOZZA, P.T.; SOUZA, T.M.I. Genetic Evidence and Host Immune Response in Persons Reinfected with. **Emerg Infect Dis**, [s.l], v.27, n.5, p.1-12 May. 2021.

FITZGERALD, K. A.; KAGAN, J. C. Toll-like receptors and the control of immunity. **Cell**, [s.l], v.180, n.6, p.1044-1066, Aug.2020.

FREEDBERG, D.E.; CHANG, L. Gastrointestinal symptoms in COVID-19: the long and the short of it. **Curr Opin Gastroenterol**, [s.l], v.1;38, n.6. p.555-561, nov.2022.

FREITAS, A.R.B.; GIOVANETTI, M.; ALCANTARA JUNIOR, L.C. Variantes emergentes do SARS-CoV-2 e suas implicações na saúde coletiva. **Interam J Med Heal**, [s.l], 2021.

FRIEDLAND, R.P.; HARIBABU, B. The role for the metagenome in the pathogenesis of COVID-19. **EBioMedicine**, [s.l], v.61, p.103019, Nov.2020.

FUNG, T.S.; LIU, D.X. Human coronavirus: host–pathogen interaction. **Annu Rev Microbiol** 2019, v.73, p. 529–557, Sep.2019.

GAO, Z.; XU, Y.; SUN, C.; WANG, X.; GUO, Y.; QIU, S.; MA, K. A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. **J. Microbiol. Immunol. Infect**, [s.l], v.54, n.1, p.12-16, Fev. 2020.

GAO. Y.; LI. T.; HAN. M.; LI.X.; WU.D.; XU.Y.; ZHU.Y.; LIU.Y.; WANG.X.; WANG.L. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. **J Med Virol**, [s.l], v. 92, p.791–796, Jul. 2020.

GARD NELSON, O.B.; SPILMAN, P.; NIAZI, K.; RABIZADEH, S.; SOON-SHIONG, P. Molecular dynamic simulation reveals e484k mutation enhances spike rbd-ace2 affinity and the combination of e484k, k417n and n501y mutations (501y.V2 variant) induces conformational change greater than n501y mutant alone, potentially resulting in an escape mutant. **BioRxiv**. [s.l], 2021.

GARIBALDI, B.T.; FIKSEL, J.; MUSCHELLI, J.; ROBINSON, M.L.; ROUHIZADEH, M.; PERIN, J.; SCHUMOCK, G.; NAGY, P.; GRAY, J.H.; MALAPATI, H.; GHOBADI RUEGER, M.; NIESSEN, T.M.; KIM, B.S.; HILL, P.M.; SHAFEEQ AHMED, M.; DOBKIN, E.D.; BLANDING, R.; ABELE, J.; WOODS, B.; HARKNESS, K.; THIEMANN, D.R.; BOWRING, M.G.; SHA, A.B.; WANG, M.C.; ROCHE, K.B.; ROSEN, A.; ZEGER, S.L.; GUPTA, A. Patient Trajectories Among Persons Hospitalized for COVID-19: A Cohort Study. **Ann Intern Med**, [s.l], v. 174, p.33-41 Jan. 2021.

GIACOBBE, D. R.; BATTAGLINI, D.; ENRILE, E. M.; DENTONE, C.; VENA, A.; ROBBA, C.; BALL, L.; BARTOLETTI, M.; COLORETTI, I.; DI BELLA, S.; DI BIAGIO, A.; BRUNETTI, I.; MIKULSKA, M.; CARANNANTE, N.; DE MARIA, A.; MAGNASCO, L.; MARAOLO, A. E.; MIRABELLA, M.; MONTRUCCHIO, G.; PATRONITI, N.; ... BASSETTI, M. Incidence and Prognosis of Ventilator-Associated Pneumonia in Critically Ill Patients with COVID-19: **A Multicenter Study**. *Journal of Clinical Medicine*, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 555, Fev.2021.

GONG, W.; PARKKILA, S.; WU, X.; ASPATWAR, A. SARS-CoV-2 variants and COVID-19 vaccines: Current challenges and future strategies, *International Reviews of Immunology*. V.42 n.6, p.393-414, 2023.

GISAID. Clade and Lineage Nomenclature Aids in Genomic Epidemiology Studies of Active hCoV-19 Viruses. Disponivel em: <https://www.gisaid.org/references/statements-clarifications/clade-and-lineage-nomenclature-aids-in-genomic-epidemiology-of-active-hcov-19-viruses/>. Acesso em: 4/Fevereiro/ 2022).

GRAF, K.; SMITH, C.; Silveira, L.; JUNG, S.; CURRAN-HAYS, S.; JARJOUR, J.; CARPENTER, L.; PICKARD, K.; MATTIUCE, M.; FRESIA, J.; MCFARLAND, E.J.; DOMINGUEZ, S.R.; ABUOGI, L. Risk factors for severe COVID-19 in children. *Pediatr Infect Dis J*, [s.l.], v.40, p.137–e145, Apr.2021.

GRANT, M.C.; GEOGHEGAN, L.; ARBYN, M.; MOHAMMED, Z.; MCGUINNESS, L.; CLARKE, E.L.; WADE, R.G. The prevalence of symptoms in 24,410 adults infected by the novel coronavirus (SARS-CoV-2; COVID-19): A systematic review and meta-analysis of 148 studies from 9 countries. *PLoS ONE*, [s.l.], v.15, n.6, Jun.2023.

GREANEY, A.J.; LOPES, A.N.; CRAWFORD, K.H.D.; STARR, T.N; MALONE, K.D.; CHU, H.Y.; BLOOM, J.D. Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma antibodies. *Cell Host Microbe*, [s.l.], v. 10;29, n.3, p. 463-476.e6, Mar 2021.

GUO, T.; FAN, Y.; CHEN, M.; WU, X.; ZHANG, L.; HE, T.; WANG, H.; WAN, J.; WANG, X.; LU, Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA cardiology*, [s.l.], v.1;5(7), p.811-818, Jul.2020.

GUO, W.; LI, M.; DONG, Y.; ZHOU, H.; ZHANG, Z.; TIAN, C.; QIN, R.; WANG, H.; SHEN, Y.; DU, K.; ZHAO, L.; FAN, H.; LUO, S.; HU, D. Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19. *Diabetes/metabolism research and reviews*, [s.l.], v.31;36, n.7, p.3319, Mar. 2020.

HADFIELD, J.; MEGILL, C.; BELL, S.M.; HUDDLESTON J.; POTTER, B.; CALLENDER, C.; SAGULENKO, P.; BEDFORD, T.; NEHER, R.A. Nextstrain: Real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics*, [s.l.], v.1;34, n.23, p.4121-4123, Dec. 2018.

HANADA, S.; PIRZADEH, M.; CARVER, K.Y.; DENG, J.C. Respiratory viral infection-induced microbiome alterations and secondary bacterial pneumonia. **Front Immunol**, [s.l], v.16:9, p.2640, Nov.2018.

HARDING, C.M.; HENNON, S.W.; FELDMAN, M.F. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. **Nat. Rev. Microbiol**, [s.l], v.16, n.2, p.91-102, Feb.2018.

HARDY, B.L.; DICKEY, S.W.; PLAUT, R.D.; RIGGINS, D.P.; STIBITZ, S.; OTTO, M.; MERREL, D.S. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* exploits *Staphylococcus aureus* virulence components in a novel polymicrobial defense strategy. **MBio**, [s.l], v.8, n.10, p.02491-18, Jan.2019.

HARRIS M, CLARK J, COOTE N, FLETCHER P, HARNDEN A, MCKEAN M, THOMSON A; British Thoracic Society Standards of Care Committee. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. **Thorax**, [s.l], v.66, suppl. 2: ii1-23, Oct.2011.

HODGSON, S.H.; MANSATTA, K.; MALLET, G.; HARRIS, V.; EMARY, K.R.W.; POLLARD, A.J. What defines an efficacious COVID-19 vaccine? A review of the challenges assessing the clinical efficacy of vaccines against SARS-CoV-2. **Lancet Infect**, [s.l], v.21, n.2, p.e26-e35, Feb.2021.

HOFFMANN, M.; KLEINE-WEBER H.; PÖHLMANN S. A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells. **Mol. Cell**, [s.l], v.78, n.4, p.779-784.e5. May.2020

HOJO-SOUZA, N.S.; FREITAS, V.L.S.; GUIDONI, D.L.; DE SOUZA, F.H. Clinical symptom profile of hospitalized COVID-19 Brazilian patients according to SARS-CoV-2 variants. **Epidemiol Health**, [s.l], v.28, p. 2023079 Aug.2023.

HOUGH, R.F.; WARK, P.A. Obesity and COVID-19 Disease: To Inflammate or Not. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, [s.l], v. 207, issue. 5, 2023.

HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L.; ZHAO, J.; HU, Y.; ZHANG, L.; FAN, G.; XU, J.; GU, X.; CHENG, Z.; YU, T.; XIA, J.; WEI, Y.; WU, W.; XIE, X.; YIN, W.; LI, H.; LIU, M.; XIAO, Y.; GAO, H.; GUO, L.; XIE, J.; WANG, G.; JIANG, R.; GAO, Z.; JIN, Q.; WANG, J.; CAO, B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, [s.l], v.395, n.10223, p. 497–506, Feb.2020.

HUANG, H.S.; TSAI, C-L.; CHANG, J.; HSU, T-C.; LIN, S.; LEE, C-C. Multiplex PCR system for the rapid diagnosis of respiratory virus infection: systematic review and meta-analysis. **Clinical Microbiology and Infection**, [s.l], v.24, n.10, p. 1055-1063 Oct.2018.

HUANG, S.; WANG, J.; LIU, F.; LIU, J.; CAO, G.; YANG, C.; LIU, W.; TU, C.; ZHU, M.; XIONG, B. COVID-19 patients with hypertension have more severe disease: a multicenter retrospective observational study. **Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension**. **Hypertens Res**, [s.l], v.43, n.8, p.824-831, Aug .2020.

HUANG, S.-W.; WANG S.-F. SARS-CoV-2 Entry Related Viral and Host Genetic Variations: Implications on COVID-19 Severity, Immune Escape, and Infectivity. **Int. J. Mol. Sci**, [s.l], v.17;22, n.6, p.3060, Mar.2021. HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. **Nature**, [s.l], v.13;486, n.7402, p.207-14 Jun.2012.

HWANG, C-S. Olfactory neuropathy in severe acute respiratory syndrome: report of a case. **Acta Neurol Taiwan**, [s.l], v.15, n.1, p.26-8. Mar.2006.

INK, G.; ORLOVA-FINK, N.; SCHINDLER, T.; GRISI, S.; FERRER, A.P.S.; DAUBENBERGER, C.; BRENTANI, A. Inactivated trivalent influenza vaccine is associated with lower mortality among Covid-19 patients in Brazil. **BMJ Evidence-Based Medicine**, [s.l], v.26, n.4, p.192-193, 2021.

INVERNIZZI, R.; LLOYD, C. M.; MOLYNEAUX, P. L. Respiratory microbiome and epithelial interactions shape immunity in the lungs. **Immunology**. [s.l], v.160, p.171–182. Jun.2020.

ISHII, S.; SADOWSKY, M.J. Applications of the rep-PCR DNA fingerprinting technique to study microbial diversity, ecology and evolution. **Environmental Microbiology**, [s.l], v. 11, n.4, p.733-40, Apr.2009.

JAIN, S.; SELF, WH.; WUNDERINK, R.G.; FAKHRAN, S.; BALK, R.; BRAMLEY, A.M.; REED, C.; GRIJALVA, C.G.; ANDERSON, E.J.; COURTNEY, D.M.; CHAPPELL, J.D.; QI, C.; HART, E.M.; CARROLL, F.; TRABUE, C.; DONNELLY, H.K.; WILLIAMS, DJ.; ZHU, Y.; ARNOLD, SR.; AMPOFO, K.; WATERER, G.W.; LEVINE, M.; LINDSTROM, S.; WINCHELL, J.M.; KATZ, J.M.; ERDMAN, D.; SCHNEIDER, E.; HICKS, L.A.; MCCULLERS, J.A.; PAVIA, A.T.; EDWARDS, K.M.; FINELLI, L.; CDC EPIC STUDY TEAM. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. adults. **N Engl J Med**, [s.l], v.30;373, n.5, p.415-27, Jul.2015.

JIN, J.M.; BAI, P.; HE, W.; WU, F.; LIU, X.F.; HAN, D.M.; LIU, S.; YANG, J.K. Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality. **Front Public Health**, [s.l], v. 29;8, p.152, Apr.2020

JOHANSEN, L.M.; BRANNAN, J.M.; DELOS, S.E.; SHOEMAKER, C.J.; STOSSEL, A.; LEAR, C.; HOFFSTROM, B.G.; DEWALD, L.E.; SCHOENBERG, K.L.; SCULLY, C.; LEHÁR, J.; HENSLEY L.E.; WHITE, J.M.; OLINGER, G.G. FDA-approved selective estrogen receptor modulators inhibit Ebola virus infection. **Sci Transl Med**, [s.l], v.19;5, n.190, p. 190ra79, Jun.2013.

KAUL D, RATHNASINGHE R, FERRES M, TAN GS, BARRERA A, PICKETT BE, METHE BA, DAS SR, BUDNIK I, HALPIN RA, WENTWORTH D, SCHMOLKE M, MENA I, ALBRECHT RA, SINGH I, NELSON KE, GARCÍA-SASTRE A, DUPONT CL, MEDINA RA. Microbiome disturbance and resilience dynamics of the upper Respiratory tract during influenza A virus infection. **Nat Commun**, [s.l], v.21,11, n. 1, p.2537, May.2020.

KEMP, S. A.; COLLIER, D. A.; DATIR, R.; FERREIRA, I.; GAYED, S.; JAHUN, A.; HOSMILLO, M.; REES-SPEAR, C.; MLCOCHOVA, P.; LUMB, I U.; ROBERTS, D. J.; CHANDRA, A.; TEMPERTON, N.; CITIID-NIHR BIORESOURCE COVID-19 COLLABORATION.; COVID-19 GENOMICS UK (COG-UK) CONSORTIUM.; SHARROCKS, K.; BLANE, E.; BRIGGS, J.; VAN, G. M.; SMITH, K.; ... GUPTA, R. K. Neutralising antibodies in spike mediated sars-cov-2 adaptation. **medRxiv: the preprint server for health sciences**, Dec.2020.

KHALILI, M.; KARAMOUZIAN, M.; NASIRI, N.; JAVADI, S.; MIRZAZADEH, A.; SHARIFI, H. Epidemiological Characteristics of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Epidemiology and Infection**, [s.l], v.29, p.148: e130, Jun,2020.

KHANAL, S.; GHIMIRE, P.; DHAMOON, A.S. The repertoire of adenovirus in human disease: the innocuous to the deadly. **Biomedicines**, [s.l], v.7, n.6(1), p.30, Mar.2018.

KHATIWADA, S., SUBEDI A. Lung microbiome and coronavirus disease 2019 (COVID-19): possible link and implications. **Hum Microbiome J**, [s.l], v. 17, p.100073, Aug.2020.

KHANDIA, R.; SINGHAL, S.; ALQAHTANI, T.; KAMAL, M. A.; EL-SHALL, N. A.; NAINU, F.; DESINGU, P. A.; DHAMA, K. Emergence of SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant, salient features, high global health concerns and strategies to counter it amid ongoing COVID-19 pandemic, **Environmental Research**. [s.l], v. 209, p. 112816, Jun. 2022.

KHURANA, S.; SINGH, P.; SHARAD, N.; KIRO, V.V.; RASTOGI, N.; LATHWAL, A.; MALHOTRA, R.; TRIKHA, A.; MATHUR, P. Profile of coinfections & secondaryinfections in COVID-19 patients at a dedicated COVID-19 facility of a tertiary care Indianhospital: Implication on antimicrobial resistance. **Ind. J. Med. Microbiol**, 2021, [s.l], v. 39, n. 2, p.147-153, Apr. 2021.

KLEIN, S.L.; JEDLICKA, A.; PEKOSZ, A. A. Te Xs and Y of immune responses to viral vaccines. **Lancet Infect. Dis**, [s.l], v. 10, n. 5, p.338-49, May.2010.

KOESTER, S.T.; LI, N.; LACHANCE, D.M.; MORELLA, N.M., DEY N. Variability in digestive and respiratory tract Ace2 expression is associated with the microbiome. **PLoS ONE**, [s.l], v.16;16, n. 3, p. e0248730, Mar.2021.

KOLHE, R.; SAHAJPAL, NS.; VYAVAHARE, S.; DHANANI, A.S.; ADUSUMILLI, S.; ANANTH, S.; MONDAL, A.K.; PATTERSON, G.T.; KUMAR, S.; ROJIANI, A.M.; ISALES, C.M.; FULZELE, S. Alteration in Nasopharyngeal Microbiota Profile in Aged Patients with COVID-19. **Diagnostics (Basel)**, [s.l], v.5;11, n. 9, p.1622, Sep.2021.

KOTB, S.; LYMAN, M.; ISMAIL, G.; ABD EL FATTAH, M.; GIRGIS, S.A.; ETMAN, A.; HAFEZ, S.; EL-KHOLY, J.; ZAKI, M.E.S.; RASHED, H.G.; KHALIL, G.M.; SAYYOUH, O.; TALAAT, M. Epidemiology of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceaein Egyptian intensive care units using National Healthcare-associated Infections Surveillance Data, 2011–2017. **Antimicrob. Resist. Infect. Control**, [s.l], v 3;9, n. 1, p.2,Jan. 2020.

KOURTIS, A.P.; HATFIELD, K.; BAGGS, J.; MU, Y.; SEE, I.; EPSON, E.; NADLE, J.; KAINER, M.A.; DUMYATI, G.; PETIT, S.; RAY, S.M.; HAM, D.; CAPERS, C.; EWING, H.; COFFIN, N.; MCDONALD, L.C.; JERNIGAN, J.; CARDO, D. Vital signs; epidemiology and recent trends in methicillin-resistant and in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections - United States. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, [s.l.], v. 8;68, n. 9, p.214-219, Mar.2019.

KRAMMER, F.; SMITH, G.J.D.; FOUCHIER, R.A.M.; PEIRIS, M.; KEDZIERSKA, K.; DOHERTY, P.C.; PALESE, P.; SHAW, M.L.; TREANOR, J.; WEBSTER, R.G.; GARCÍA-SASTRE, A. Influenza. **Nature Reviews Disease Primers**, [s.l.], v.28;4, n. 1, p.3, Jun.2018.

KUMPITSCH, C.; KOSKINEN, K.; SCHÖPF, V.; MOISSEL-EICHINGER, C. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease. **BMC Biol**, [s.l.], v. 7;17, n.1:87, Nov.2019.

KUTTER, J.S.; SPRONKEN, M.I.; FRAAIJ, P.L.; FOUCHIER, R.A.; HERFST, S. Transmission routes of respiratory viruses among humans. **Curr Opin Virol**, [s.l.], v. 28, p.142-151, Feb. 2018.

LAI, C.C.; WANG, C.Y.; HSUEH, P.R. Co-infections among patients with COVID-19: The need for combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents? **J. Microbiol. Immunol. Infect**, [s.l.], v. 53, n. 4, p.505-512, Aug.2020.

LAI, C.C.; WANG, C.Y.; HSUEH, P.R. Co-infections among patients with COVID-19: The need for combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents? **J. Microbiol. Immunol. Infect**, [s.l.], v. 53, n. 4, p.505-512, Aug.2020.

LEBEER, S.; VANDERLEYDEN, J.; DE KEERSMAECKER, S. C. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. **Nat. Rev. Microbiol.** [s.l.], v.8, p.171–184, 2010.

LANSBURY, L.; LIM, B.; BASKARAN, V.; LIM, W.S. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **J Infect**, [s.l.], v.81, n.2, p.266–275, Aug.2020.

LAZAREVIC, I.; PRAVICA, V.; MILJANOVIC, D.; CUPIC, M. Immune evasion of SARS-CoV-2 emerging variants: What have we learnt so far? **Viruses**, [s.l.], v.13, p.1192. Jun.2021.

LEE, C.R.; LEE, J.H.; PARK, M.; PARK, K.S.; BAE, I.K.; KIM, Y.B.; CHA, C.J.; JEONG, B.C.; LEE, S.H. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. **Front. Cell. Infect. Microbiol**, [s.l.], v. 13,n.7, p.55, Mar. 2017.

LENGLET, A.; HERRADOR, Z.; MAGIORAKOS, A.P.; LEITMEYER, K.; COULOMBIER, D.; EUROPEAN WORKING GROUP ON MYCOPLASMA PNEUMONIAE SURVEILLANCE. Surveillance status and recent data for *Mycoplasma pneumoniae* infections in the European Union and European Economic Area, January 2012. **Euro Surveill**, [s.l.], v. 2, n.17(5), p.20075 Feb.2012.

- LEUNG, N.H.L. Transmissibility and transmission of respiratory viruses. **Nat Rev Microbiol**, [s.l], v. 19, n. 8, p.528-545, Aug.2021.
- LI, B.; YANG, J.; ZHAO, F.; ZHI, L.; WANG, X.; LIU, L.; BI, Z.; ZHAO, Y. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. **Clin Res Cardiol**, [s.l], v. 109, n.5, p.531-538, May.2020.
- LI, H.; TIAN, S.; CHEN, T.; CUI, Z.; SHI, N.; ZHONG, X.; QIU, K.; ZHANG, J.; ZENG, T.; CHEN, L.; ZHENG, J. Newly diagnosed diabetes is associated with a higher risk of mortality than known diabetes in hospitalized patients with COVID-19. **Diabetes, Obesity & Metabolism**, [s.l], v. 22, n.10, p.1897-1906, Oct.2020.
- LI, L-Q.; HUANG, T.; WANG, Y-Q.; WANG, Z-P.; LIANG, Y.; HUANG, T-B.; ZHANG, H-Y.; SUN, W.; WANG, Y. COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate and fatality rate of meta-analysis. **J Med Virol**, [s.l], v. 92, n. 6, p. 577-583, Jun. 2020.
- LI, N.; MA, W.T.; PANG, M.; FAN, Q.L.; HUA, J.L. The Commensal Microbiota and Viral Infection: A Comprehensive Review. **Front Immunol**, [s.l], v.4, p.10:1551, Jul.2019.
- LI, W.; MA, Z.S. The Upper Respiratory Tract Microbiome Network Impacted by SARS-CoV-2. **Microb Ecol**, [s.l], v.86, n. 2, p.1428-1437. Aug.2023.
- LIGHTER, J.; PHILLIPS, M.; HOCHMAN, S.; STERLING, S.; JOHNSON, D.; FRANCOIS, F.; STACHEL, A. Obesity in patients younger than 60 years is a risk factor for Covid-19 hospital admission. **Clin Infect Dis**, [s.l], v.28;71, n.15, p.896-897, Jul.2020.
- LIPSKY, M.S.; HUNG, M. Men and COVID-19: A Pathophysiologic Review. **Am J Mens Health**, [s.l], v .14, n.5 p.1557988320954021, Sep. 2020.
- LIU, P.; CAI, J.; JIA, R.; XIA, S.; WANG, X.; CAO, L.; ZENG, M.; XU, J. Dynamic surveillance of SARS-CoV-2 shedding and neutralizing antibody in children with COVID-19. **Emerg Microbes Infect**, [s.l], v.9, n. 1, p.1254-1258, Jan.2020.
- LIU, X.; LIU, C.; LIU G.; LUO W.; XIA N. COVID-19: Progress in diagnostics, therapy and vaccination. **Theranostics**, [s.l], v. 19;10, n. 17, p.7821-7835, Jun.2020.
- LLOYD-PRICE, J.; ABU-ALI, G.; HUTTENHOWER, C. The healthy human microbiome. **Genome Med**, [s.l], v.27;8, n. 1, p.51, Apr. 2016.
- LOZUPONE, C.A.; STOMBAUGH, J.I.; GORDON, J.I.; JANSSON, J.K.; KNIGHT, R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. **Nature**, [s.l], v. 13;489, n.7415, p.220-30, Sep.2012.
- LU, R.; ZHAO, X.; LI, J.; NIU, P.; YANG, B.; WU, H.; WANG, W.; SONG, H.; HUANG, B.; ZHU, N.; BI, Y.; MA, X.; ZHAN, F.; WANG, L.; HU, T.; ZHOU, H.; HU, Z.; ZHOU, W.; ZHAO, L.; CHEN, J.; MENG, Y.; WANG, J.; LIN, Y.; YUAN, J.; XIE, Z.; MA, J.; LIU, W-J.; WANG, D.; XU, W.; HOLMES, E-C.; GAO, G-F.; WU, G.; CHEN, W.; SHI, W.; TAN, W. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. **Lancet**, [s.l], v.22;395, n.10224, p.565-574, Feb.2020.

MCCARTHY, K.R.; RENNICK, L.J.; NAMBULLI, S.; ROBINSON-MCCARTHY, L.R.; BAIN, W.G.; HAIDAR, G.; DUPREX, W.P. Recurrent deletions in the sars-cov-2 spike glycoprotein drive antibody escape. **Science**. [s.l], v.371, p.1139–1142. Mar. 2021.

MACHADO, P.R.L.; ARAÚJO, M.I.A.S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E.M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **A Bras Dermatol**, [s.l], v.79, n. 6, Dec 2004.

MAHASE, E. Covid-19: most patients require mechanical ventilation in first 24 h of criticalcare. **BMJ**, [s.l], v. 368, 2020.

MAN, WH.; PITERS, W.A.A.S.; BOGAERT, D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. **Nat Rev Microbiol**, [s.l], v. 15, n. 5, p.259-270, May.2017.

MARCIALIS, M.A.; BARDANZELLU, F.; FANOS, V. Microbiota and Coronavirus Disease Which came first, the chicken or the egg? **Clin Infect Dis**, [s.l], v. 15;72, n. 12, p.2245-2246, Jun. 2021.

MARÍ-ALMIRALL, M.; COSGAYA, C.; HIGGINS, P.G.; VAN ASSCHE, A.; TELLI, M.; HUYS, G.; LIEVENS, B.; SEIFERT, H.; DIJKSHOORN, L.; ROCA, I. MALDI-TOF/MS identification of species from the *Acinetobacter baumannii* (Ab) group revisited: Inclusion of the novel *A. seifertii* and *A. dijkshoorniae* species. **Clin. Microbiol. Infect**, [s.l], vol.23, e9, issue.3, p. 210 ,2017.

MARTENS, K.; PUGIN, B.; DE BOECK, I.; SPACOVA, I.; STEELANT, B.; SEYS, SF.; LEBEER, S.; HELTINGS, P.W. Probiotics for the airways: potential to improve epithelial and immune homeostasis. **Allergy**. [s.l], v.73, n. 10, p.1954–1963, Oct .2018.

MARTIN, R.M.; BACHMAN, M.A. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. **Front. Cell. Infect. Microbiol**, [s.l], v. 22 p.8:4, Jan.2018.

MARTINS, L.R.; CODEÇO, C.F.; DA COSTA, G.M.F.; GONCALVES, C.O.; SOARES, B.L.; MACIEL, V.D.A.; TORRES, C.C. Emergência do novo coronavírus (SARS-CoV-2) e o papel de uma vigilância nacional em saúde oportuna e efetiva. **Cadernos De Saúde Pública, Rio de Janeiro**, [s.l], v.36, n. 3, p.1-5, 2020.

METERSKY, M.L.; MASTERTON, R.G.; LODE, H.; FILE JR, T.M.; BABINCHAK, T.; Epidemiology, microbiology, and treatment considerations for bacterial pneumonia complicating influenza. **Int J Infect Dis**. [s.l], v.16, n.5, p.e321–e331, May.2012.

MICHELEN, M.; JONES, N.; STAVROPOULOU, C. In patients of COVID-19, what are the symptoms and clinical features of mild and moderate cases? **The centre for evidence - based medicine Evidence Service to: Support the COVID-19 response**, Apr. 2020. Disponível em: <https://www.cebm.net/covid-19/in-patients-of-covid-19-what-are-the-symptoms-and-clinical-features-of-mild-and-moderate-case/> Acesso em: 3 de nov. 2021.

MORIYAMA, M.; HUGENTOBLER, W.J.; IWASAKI, A. Seasonality of respiratory viral infections. **Annu Rev Virol**, [s.l], v. 29;7, n. 1, p.83-101. Sep.2020.

MURPHY, T. F., PARAMESWARAN, G. I. *Moraxella catarrhalis*, a Human Respiratory Tract Pathogen. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l], v. 49, n.1, p.124–131, Jul.2009.

NAQVI, A.A.T., FATIMA, K.; MOHAMMAD, T., FATIMA, U., SINGH, I.K., SINGH, A., ATIF, S.M., HARIPRASAD, G., HASAN, G.M., HASSAN, M.I. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. **Biochim. Biophys. Acta-Mol. Basis Dis**, [s.l], v. 1;1866, n. 10, p.165878, Oct. 2020.

NAVECA, F. G.; NASCIMENTO, V.; DE SOUZA, V. C.; CORADO, A. L.; NASCIMENTO, F.; SILVA, G.; COSTA, Á.; DUARTE, D.; PESSOA, K.; MEJÍA, M.; BRANDÃO, M. J.; JESUS, M.; GONÇALVES, L.; DA COSTA, C. F.; SAMPAIO, V.; BARROS, D.; SILVA, M.; MATTOS, T.; PONTES, G.; ABDALLA, L.; ... BELLO, G. (2021). COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P.1 emergence. **Nature medicine**. [s.l], v.27, n. 7, p. 1230–1238.

NEMEC, A.; KRIZOVA, L.; MAIXNEROVA, M.; SEDO, O.; BRISSE, S.; HIGGINS, P.G. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol**, [s.l], vol. 65, issue Pt_3, p.934–942, Mar.2015.

NESBITT, H.; BURKE, C.; HAGHI, M. Manipulation of the Upper Respiratory Microbiota to Reduce Incidence and Severity of Upper Respiratory Viral Infections: A Literature Review. **Front Microbiol**. [s.l], v.27, n.12, p. 713703 Aug.2021.

NEXTRAIN: Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 with subsampling focused globally over the past 6 months. 2023 Disponível em: https://nextstrain.org/ncov/open/global?c=emerging_lineage acessado em 8 de novembro de 2023.

NIEDERMAN, M.S.; MANDELL, L.A.; ANZUETO, A.; BASS, J.B.; BROUGHTON, W.A.; CAMPBELL, G.D.; DEAN, N.; FILE, T.; FINE, M.J.; GROSS, P.A.; MARTINEZ, F.; MARRIE, T.J.; PLOUFFE, J.F.; RAMIREZ, J.; SAROSI, G.A.; TORRES, A.; WILSON, R.; YU, V.L.; American Thoracic Society. Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention. **Am J Respir Crit Care Med**, [s.l], v.163, n. 7, p. 1730-1754, Jun. 2001.

NONAKA, C.K.V.; FRANCO, M.M.; GRÄF, T.; DE LORENZO BARCIA, C.A.; DE ÁVILA MENDONÇA, R.N.; DE SOUSA, K.A.F.; NEIVA, L.M.C.; FOSENCA, V.; MENDES, A.V.A.; DE AGUIAR, R.S.; GIOVANETTI, M.; DE FREITAS SOUZA, B.S.

Genomic Evidence of SARSCoV-2 Reinfection Involving E484K Spike Mutation, Brazil.

Emerg Infect Dis, [s.l], v. 27, n.5, p.1522-1524, May.2021.

NUNES, B.; SOUZA, A.S DE.; NOGUEIRA, J.; ANDRADE, F.; THUMÉ, E; TEIXEIRA, D; LIMA-COSTA, M.F.; FACCHINI, L.F.; BATISTA, S .Envelhecimento, multimorbidade e risco para COVID-19. **ELSI-Brasil. In SciELO Preprints**, [s.l], v. 2, n. 9, p. 2-22, 2020.

NUNES-SILVA, C.; VILARES, A.T.; SCHWEITZER, V.; CASTANHINHA, S.; MARTINS, A.; LOPES, M.J.; ASCOLI-BARTOLI, T.; CANELAS, G.; KEIR, H.R.; CUNHA, F.; SILVA-PINTO, A.; REBELO, S.; CUNHA, R.G.; TAVARES, M. Non- COVID-19 respiratory viral infection. **Breathe (Sheff)**, [s.l], v.18, n.1, p.210151, Mar.2022.

O'CONNOR, E, THE, J.; KAMAT, A.M.; LAWRENTSCHUK, N. Bacillus Calmette Guérin (BCG) vaccination use in the fight against COVID-19 - what's old is new again? **Future Oncol**, [s.l], v. 16, n.19, p.1323-1325, Jul.2020.

OGIMI, C, WAGHMARE, A.A.; KUYPERS, J.M.; XIE, H, YEUNG, C.C.; LEISENRING, W.M.; SEO, S.; CHOI, S-M.; JEROME, K.R.; ENGLUND, J.A.; BOECKH, M. Clinical significance of human coronavirus in bronchoalveolar lavage samples from hematopoietic cell transplant recipients and patients with hematologic malignancies. **Clin Infect Dis**, [s.l],v. 1;64, n. 11, p.1532-1539, Jun. 2017.

OUDIT, GY.; KASSIRI, Z.; JIANG, C.; LIU, P.P.; POUTANEN, S.M.; PENNINGER, J.M.; BUTANY, J. SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS. **Eur J Clin Invest**, [s.l], v. 39, n. 7, p.618-25, Jul. 2009.

PANGO : Latest Epidemiological Lineages of SARS-CoV-2, Disponivel em: <https://cov-lineages.org/index.html>. acessado em 4 de fev.2021.

PAWEŁCZYK, M.; KOWALSKI, M.L. The Role of Human Parainfluenza Virus Infections in the Immunopathology of the Respiratory Tract. **Curr Allergy Asthma Rep**, [s.l], v. 17,n.3, p.16, Mar.2017.

PARKER, D.; PRINCE, A. Innate immunity in the respiratory epithelium. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.** [s.l], v.45, p.189–201 Aug.2011.

PEREIRA, A.C.A; NARCISO, B.B.D.; MANSANO, C.F.M. Doenças Infeciosas Emergentes e Re-emergentes: Emerging and Re-emerging Infectious Diseases. **Archives of Health, Curitiba**, [s.l], v. 2, ed. 4, p. 725-728, special edition, Jul. 2021.

PETERSEN, C.; ROUND, J.L. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. **Cell Microbiol**, [s.l], v.16, n.7, p.1024-33, Jul.2014.

PETTIT, N.N.; MACKENZIE, E.L.; RIDGWAY, J.P.; PURSELL, K.; ASH, D.; PATEL, B.; PHO, M.T. Obesity is Associated with Increased Risk for Mortality Among Hospitalized Patients with COVID-19. **Obesity (Silver Spring)**, [s.l], v.28, n.10, p.1806- 1810, Oct.2020.

PORTO, B.N.; MORAES, T.J. The triad: respiratory microbiome–virus–immune response in the pathophysiology of pulmonary viral infections. **Expert Rev Respir Med**, [s.l], v. 15,n.5, p.635-648 May.2021.

PRADO, P. R. DO.; GIMENES, F. R. E.; LIMA, M. V. M. DE.; PRADO, V. B. DO.; SOARES, C. P.; AMARAL, T. L. M. Fatores de risco para óbito por COVID-19 no Acre,2020: coorte retrospectiva. **Epidemiologia E Serviços De Saúde**, [s.l], v. 19;30, n.3, p.e2020676, Jul.2021.

PRESCOTT, H.; DICKSON, R.P.; ROGERS, M.A.M.; LANGA, K.M.; IWASHYNA TJ. Hospitalization type and subsequent severe Sepsis. **Am J Respir Crit Care Med**, [s.l], v. 1;192, n.5, p.581-8, Sep.2015.

PUBLIC HEALTH ENGLAND. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant: variant of concern 202012/01: technical briefing 3. [acessado 15 de nov de 2021]. Available at: <https://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20201201>.

QIN, T.; WANG, Y.; DENG, J.; XU, B.; ZHU, X.; WANG, J.; ZHOU, H.; ZHAO, N.; JIN, F.; REN, H.; WANG, H.; LI, Q.; XU, X.; GUO, Y.; LI, R.; XIONG, Y.; WANG, X.; GUO, J.; ZHENG, H.; HOU, X.; WAN, K.; ZHANG, J.; LU, J.; KAN, B.; XU, J. Super Dominant Pathobiontic Bacteria in the Nasopharyngeal Microbiota Cause Secondary Bacterial Infection in COVID-19 Patients. **Microbiol Spectr**, [s.l], v.29;10, n.3, p.e0195621, Jun. 2022.

QU, J.; CAI, Z.; LIU, Y.; DUAN, X.; HAN, S.; LIU, J.; ZHU, Y.; JIANG, Z.; ZHANG, Y.; ZHUO, C.; LIU, Y.; LIU, Y.; LIU, L.; YANG, L. Persistent Bacterial Coinfection of a COVID-19 Patient Caused by a Genetically Adapted *Pseudomonas aeruginosa* Chronic Colonizer. **Front Cell Infect Microbiol**, [s.l], v.29;10, n. 3, p.e0195621, Mar.2021.

RAGNI, P.; MARINO, M.; FORMISANO, D.; BISACCIA, E.; SCALTRITI, S.; BEDESCHI, E.; GRILLI, R. Association between Exposure to Influenza Vaccination and COVID-19 Diagnosis and Outcomes. **Vaccines**, [s.l], v.12;8, n. (4), p.675. Nov.2020.

RAMBAUT, A.; HOLMES, E.C.; O'TOOLE, Á.; HILL, V.; MCCRONE, J.T.; RUIS, C.; DU PLESSIS, L.; PYBUS, O.G. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. **Nat Microbiol**, [s.l], v.5, n.11, p.1403-1407, Nov.2020.

RELAN, P.; MOTAZE, N. V.; KOTHARI, K.; ASKIE, L.; LE POLAIN, O.; VAN KERKHOVE, M. D.; DIAZ, J.; TIRUPAKUZZHI VIJAYARAGHAVAN, B. K. Severity and outcomes of Omicron variant of SARS-CoV-2 compared to Delta variant and severity of Omicron sublineages: a systematic review and metanalysis. **BMJ Global Health**. [s.l], v.8, n.7, p.e012328.Jul.2023.

REZAEI, F.; GEORAS, S. N. Breaking barriers. new insights into airway epithelial barrier function in health and disease. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.** [s.l], v.50, n.5,p.857–869, May.2014.

RODRIGUES, L. Isolamento social e os níveis de escolaridade. **Teoria e Cultura**, [s.l],v17, n1,31, mai.2022.

RUDD, J.M.; ASHAR, H.K.; CHOW, V.T.; TELUGUAKULA, N. Lethal synergism between influenza and *Streptococcus pneumoniae*. **J Infect Pulm Dis**, [s.l], v. 2, n.2, p.10.16966/2470-3176, Oct.2016.

RUSSELL, C.D.; LONE, N.I.; BAILLIE, J.K. Comorbidities, multimorbidity and COVID-19. **Nat Med**, [s.l], v.29, n. 2, p.334-343, Feb.2023.

RUSSELL, E.; YANG, A.; TARDREW, S.; ISON, M.G. Parainfluenza virus in hospitalized adults: a 7-year retrospective study. **Clin Infect Dis**, [s.l], v. 7;68 n. (2), p.298-305, Jan. 2019.

SABINO, E. C.; BUSS, L. F.; CARVALHO, M. P. S.; PRETE, C. A. JR.; CRISPIM, M. A. E.; FRAJJI, N. A.; PEREIRA, R. H. M.; PARAG, K. V.; DA SILVA PEIXOTO, P.; KRAEMER, M. U. G.; OIKAWA, M. K.; SALOMON, T.; CUCUNUBA, Z. M.; CASTRO, M. C.; DE SOUZA SANTOS, A. A.; NASCIMENTO, V. H.; PEREIRA, H. S.; FERGUSON, N. M.; PYBUS, O. G.; KUCHARSKI, A.; ... FARIA, N. R. Resurgence of covid-19 in Manaus, Brazil, despite high seroprevalence. **Lancet**. (London, England), v.397, p.452–455. Feb.2021.

SADOWSKY, M.J.; HUR, H.-G. Use of endogenous repeated sequences to fingerprint bacterial genomic DNA. In: DE BRUIJN, F.J.; LUPSKI, J.R.; WEINSTOCK, G.M. **In Bacterial Genomics**, [s.l.], p. 399–413, 1998.

SALTIGERALL P.; LEÓN, X. Virus SARS-CoV-2 Qué se sabe al momento? SARS-CoV-2 Virus. What is currently known? **Acta Pediatr. Mex**, [s.l.], v.41(4S1), n. 3, 2020.

SALZBERGER, B.; BUDER, F.; LAMPL, B.; EHRENSTEIN, B.; HITZENBICHLER, F.; HOLZMANN, T.; SCHMIDT, B.; HANSES, F. **Epidemiology of SARS-CoV-2. Infection**, [s.l.], v. 49, n. 2, p.233-239, Apr..2021.

SANTACROCE, L.; CHARITOS, I.A.; BALLINI, A.; INCHINGOLO, F.; LUPERTO, P.; DE NITTO E.; TOPI, S. The human respiratory system and its microbiome at a glimpse. **Biology**, [s.l.], v. 1;9, n.10, p.318, Oct. 2020.

SANTANA, W. C., LIMA, A. A. C., MUNIZ, V. DE O., MACHUCA-CONTRERAS, F., VALE, P. R. L. F. D., CARVALHO, E. S. DE S., & SOUSA, A. R. DE. Manifestações clínicas e repercussões dos sintomas prolongados e sequelas pós-COVID-19 em homens: netnografia. **Acta Paulista De Enfermagem**, [s.l.], v. 36, 2023.

SCHENCK, L.P.; SURETTE, M.G.; BOWDISH, D.M.E. Composition and immunological significance of the upper respiratory tract microbiota. **FEBS Lett**, [s.l.], v.590, n.21, p.3705-3720, Nov.2016.

SCHENEIDER, A.; KIRSTEN, H.; LORDICK, F.; LORDICK, F.; LUBBERT, C.; BRAUN, A. Covid-19 in outpatients –Is fever a useful indicator for SARS-CoV-2 infection? **PLoS ONE**, [s.l.], v. 3;16, n. (2), p.e0246312, Feb.2021.

SCHMIDT, A.L.; ANDERSON, L.M. Repetitive DNA elements as mediators of genomic change in response to environmental cues. **Biol Rev**, [s.l.], v.81, n.4, p.531-43, Nov.2006.

SHARMA, L., FENG, J., BRITTO, C. J., AND DELA CRUZ, C. S. Mechanisms of epithelial immunity evasion by respiratory bacterial pathogens. **Front. Immunol.** [s.l.], v.11, p.91, Feb.2020.

SHAW, A.C.; JOSHI, S.; GREENWOOD, H.; PANDA, A.; LORD, J.M. Aging of the innate immune system. **Curr Opin Immunol**, [s.l.], v. 22, n. 4, p.507-13, Aug.2020.

SHIEH, W.J. Human adenovirus infections in pediatric population - An update on clinico-pathologic correlation. **Biomed J**, [s.l.], v.45, n.1, p.38-49, Feb. 2022.

SHINOHARA, D.R.; SAALFELD, S.M.S.; MARTINEZ, H.V.; ALTAFINI, D.D.; COSTA, B.B.; FEDRIGO, N.H.; TOGNIM, M.C.B. Outbreak of endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a coronavirus disease 2019 (COVID-19)-specific intensive care unit. **Infect. Cont. Hosp. Epidemiol**, [s.l], v. 43, n. 6, p.815-817, Jun. 2022.

SYED, A. M.; CILING, A.; KHALID, M. M.; SREEKUMAR, B.; CHEN, P. Y.; KUMAR, G. R.; SILVA, I.; MILBES, B.; KOJIMA, N.; HESS, V.; SHACREAW, M.; LOPEZ, L.; BROBECK, M.; TURNER, F.; SPRAGGON, L.; TAHA, T. Y.; TABATA, T.; CHEN, I. P.; OTT, M.; DOUDNA, J. A Omicron mutations enhance infectivity and reduce antibody neutralization of SARS-CoV-2 virus-like particles. **medRxiv**. [s.l], v.2 [Preprint]. Jan.2022.

SIMONNET, A.; CHETBOUN, M.; POISSY, J.; RAVERDY, V.; NOULETTE, J.; DUHAMEL, A.; LABREUCHE, J.; MATHIEU, D.; PATTOU, F.; JOURDAIN, M.; LICORN, AND THE LILLE COVID-19 AND OBESITY STUDY GROUP. High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. **Obesity (Silver Spring)**, [s.l], v.28, n. 7, p.1195-1199, Jul. 2020.

STARR, T. N.; GREANEY, A. J.; HILTON, S. K.; ELLIS, D.; CRAWFORD, K. H. D.; DINGENS, A. S.; NAVARRO, M. J.; BOWEN, J. E.; TORTORICI, M. A.; WALLS, A. C.; KING, N. P.; VEESLER, D.; BLOOM, J. D. Deep mutational scanning of SARS-CoV-2 receptor binding domain reveals constraints on folding and ACE2 binding. **Cell**. [s.l], v.182, p.1295–1310. e. 20. Sep. 2020.

STEPHENSON, K.E.; RHEE, E.G.; BAROUCH, D.H. **Adenoviruses**: 9th Edn. Philadelphia: **Elsevier**, 2020.

SURENDER, K.; SARKAR, M. Mycoplasma pneumonia: clinical features and management. **Lung India**, [s.l], v.27, n.2, p.75–85, Apr- Jun.2010.

SUZUKI, M.; SAITO, K.; MIN, WP.; VLADAU, C.; TOIDA, K.; ITOH, H.; MURAKAMI, S.; **Identification of viruses in patients with postviral olfactory dysfunction. Laryngoscope**, [s.l], v. 117, n. 2, p.272-7, Feb. 2007.

TADIC, M.; CUSPIDI, C.; GRASSI, G.; MANCIA, G. COVID-19 and arterial hypertension: Hypothesis or evidence? **J Clin Hypertens (Greenwich)**, [s.l], v. 22, n.7, p.1120-1126, Jul. 2020.

TAKAHASHI, T.; ELLINGSON, M.K.; WONG, P.; ISRAEL, O.W.B.; LUCAS, C.; KLEIN, J.; SILVA, J.; MAO, T.; OH, J.E.; TOKUYAMA, M.; LU, P.; VENKATARAMAN, A.; PARK, A.; LIU, F.; MEIR, A.; SUN, J.; WANG, E.Y.; CASANOVAS-MASSANA, A.; WYLLIE, A.L.; VOGELS, C.B.F.; EARNEST, R.; LAPIDUS, S.; OTT, I.M.; MOORE, A.J.; YALE IMPACT RESEARCH TEAM; SHAW, A.; FOURNIER, J.B.; ODIO, C.D.; FARHADIAN, S.; DELA CRUZ, C.; GRUBAUGH, N.D.; SCHULZ, W.L.; RING, A.M.; KO, A.I.; OMER, S.B.; IWASAKI, A. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. **Nature**, [s.l], v.588,n.7837, p.315-320, Dec.2020.

TANG, J.W.; TOOVEY, O.T.R.; HARVEY, K.N.; HUI, D.D.S. Introduction of the South African SARS-CoV-2 variant 501Y.V2 into the UK. **J Infect.** [s.l], v.82, n.4, p. e8–e10, Apr.2021.

TAMHANKAR, P. M. Reference ranges for lymphocyte subsets in adults from western India: influence of sex, age and method of enumeration. **Indian J Med Sci.** [s.l], v.63, n.9, p.415 Sep.2008.

TAY M.Z., POH C.M., RÉNIA L., MACARY P.A., NG L.F.P. The trinity of COVID-19: Immunity, inflammation and intervention. **Nat. Rev. Immunol.** [s.l], v.20, p 363–374, Apr. 2020.

THAKUR, V.; KANTA RATHO, R.OMICRON (B.1.1.529): a new SARSCoV-2 variant of concern mounting worldwide fear. **J Med Virol.** [s.l], v.94, n.5, p. 1821-1824, May.2022.

The top 10 causes of death. 2022. World Health Organization- WHO, 2022. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> Acesso em: 03/10/22.

THOMAS, S.; IZARD, J.; WALSH, E.; BATICH, K.; CHONGSATHIDKIET, P.; CLARKE, G.; SELA D.A.; MULLER, A.J.; MULLIN, J.M.; ALBERT, K.; GILLIGAN, J.P.; DIGUILIO, K.; DILBAROVA, R.; ALEXANDER, W.; PRENDERGAST, G.C. The host microbiome regulates and maintains human health: a primer and perspective for non-microbiologists. **Cancer Res.** [s.l], v.15;77, n. 8, p.1783-1812, Apr.2017.

TOBES, R.; RAMOS, J.L. REP code: defining bacterial identity in extragenic space. **Environ Microbiol.** [s.l], v. 7, n.2, p.225-8, Feb.2005.

TORJESEN I. Covid-19: Omicron may be more transmissible than other variants and partly resistant to existing vaccines, scientists fear. **Br Med J.** [s.l], v.29, p. 375, n.2943. Nov.2021.

TOWNER, K.J. *Acinetobacter*: An old friend, but a new enemy. **J. Hosp. Infection.** [s.l], v. 73, n.4, p.355-63, Dec.2009.

TREANOR, J.J. **Influenza viruses, including avian influenza and swine influenza**: Churchill Livingstone; Philadelphia ,2010.

TSOLIA, M.N.; PSARRAS, S.; BOSSIOS, A.; AUDI, H.; PALDANIUS, M.; GOURGIOTIS, D.; KALLERGI, K.; KAFETZIS, D.A.; CONSTANTOPOULOS, A.; PAPADOPOULOS, N.G. Etiology of community acquired pneumonia in hospitalized school-age children: evidence for high prevalence of viral infections. **Clin Infect Dis.** [s.l], v.1;39, n. 5, p. 681-6, Sep.2004.

USSERY, D.W.; BINNEWIES, T.T.; GOUVEIA-OLIVEIRA, R.; JARMER, H.; HALLIN, P.F. Genome update: DNA repeats in bacterial genomes. **Microbiology.** [s.l], v. 150 n. Pt11, p.3519-3521, Nov.2004.

VAIRA, L.A.; SALZANO, G.; DEIANA, G.; DE RIU, G. Anosmia and Ageusia: Common Findings in COVID-19 Patients. **Laryngoscope.** [s.l], v. 130, n.7, p.1787, Jul.2020.

VAN DEN HOOGEN, B.G.; VAN DOORNUM, G.J.J.; FOCKENS, J.C.; CORNELISSEN, J.J.; BEYER, W.E.; DE GROOT, R.; OSTERHAUS, A.D.M.E., FOUCHIER, R.A.M. Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients. **J Infect Dis**, v.15;188 n. 10, p.1571-7, Nov. 2003.

VAN DER LELIE, D. TAGHAVI, S. COVID-19 and the Gut Microbiome: more than a Gut Feeling. **MSystems**, [s.l], v.21;5, n 4, p.e00453-20, Jul.2020.

VAN DER VOORT, P.H.J.; MOSER, J.; ZANDSTRA, D.F.; KOBOLD, A.C.M.; KNOESTER, M.; CALKHOVEN, C.F.; HAMMING, I.; VAN MEURS, M. Leptin levels in SARS-CoV-2 infection related respiratory failure: a cross-sectional study and a pathophysiological framework on the role of fat tissue. **Heliyon**, [s.l], v. 6, n.8, p. e04696, Aug.2020.

VAN LOOVEREN, M.; GOOSSENS, H.; ARPAC STEERING GROUP. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter spp.* in Europe. **Clin. Microbiol. Infect**, [s.l], v.10, n.8, p.684-704, Aug. 2004.

VERSALOVIC, J.; KOEUTH, T.; LUPSKI, J.R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. **Nucleic acids research**, [s.l], v. 25;19, n.24, p.6823-31, Dec.1991.

VERSALOVIC, J.; LUPSKI, J.R. Interspersed Repetitive Sequences in Bacterial Genomes. In: de Bruijn, F.J., Lupski, J.R., Weinstock, G.M. (eds) **Bacterial Genomes**: Springer, Boston, MA: 1998.

VIJAYAKUMAR, S.; BISWAS, I.; VEERARAGHAVAN, B. Accurate identification of clinically important *Acinetobacter spp.*: An update. **Future Sci**, [s.l], v.27;5, n.6, p. FSO395, Jun.2019.

VOLOCH, C.M.; DA SILVA JR, F. R.; DE ALMEIDA, L.G.P.; CARDOSO, C.C.; BRUSTOLINI, O.J.; GERBER, A.L.; GUIMARÃES, A.P.C.; MARIANI, D.; DA COSTA, R.M.; FERREIRA JR, O.C.; COVID19-UFRJ WORKGROUP, LNCC WORKGROUP, CAVALCANTI. A.C.; FRAUCHES, T.S.; DE MELLO, C.M.B.; LEITÃO, I.C.; GALLIEZ, R.M.; FAFTE, D.S.; CASTIÑEIRAS, T.M.P.P.; TANURI, A.; DE VASCONCELOS, A.T.R. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. **J Virol**, [s.l], v. 26;95, n. 10, p.e00119-21, Mar.2021.

VOLZ, E.; HILL, V.; MCCRONE, J.T.; PRICE, A.; JORGENSEN, D.; O'TOOLE, Á.; SOUTHGATE, J.; JOHNSON, R.; JACKSON, B.; NASCIMENTO, F.F.; REY, S.M.; NICHOLLS, S.M.; COLQUHOUN, R.M.; DA SILVA, F.A.; SHEPHERD, J.; PASCALL, D.J.; SHAH, R.; JESUDASON, N.; LI, K.; JARRETT, R.; PACCHIARINI, N.; BULL, M.; GEIDELBERG, L.; SIVERONI, I.; COG-UK, C.; GOODFELLOW, I.; LOMAN, N.J.; PYBUS, O.G.; ROBERTSON, D.L.; THOMSON, E, C.; RAMBAUT, A.; CONNOR, T.R. Evaluating the Effects of SARS-CoV-2 Spike Mutation D614G on Transmissibility and Pathogenicity. **Cell**, [s.l], v. 7;184, n.1, p.64-75. e11, Jan.2021.

VOYNOW, J. A.; RUBIN, B. K. Mucins, mucus, and sputum. **Chest**. [s.l], v.135, n.2, p. 505–512. feb.2009.

- WAITES, K.B.; XIAO, L.; LIU, Y.; BALISH, M.F.; ATKINSON, T.P. Mycoplasma Pneumoniae from the Respiratory Tract and Beyond. **Clin. Microbiol. Rev.**, [s.l], v. 30, n.3, p.747-809, Jul.2017.
- WALLS, A.C.; PARK, Y.-J.; TORTORICI, M.A.; WALL, A.; MCGUIRE, A.T.; VEESLER, D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 *Spike* Glycoprotein. **Cell**, [s.l], v. 181, n.2.p. 281-292.e6, Apr. 2020.
- WALSH, E.E.; SHIN, J.H.; FALSEY, A.R. Clinical impact of human coronaviruses 229E and OC43 infection in diverse adult populations. **J Infect Dis**, [s.l], v. 15;208, n. 10, p.1634-42, Nov.2013.
- WAN, Y.; SHANG, J.; GRAHAM, R.; BARIC, R.S.; LI, F. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decadelong structural studies of SARS coronavirus. **J Virol**, [s.l], v. 17;94, n.7, p.e00127-20, Mar. 2020.
- WANG, P.; LIU, L.; IKETANI, S.; LUO, Y.; GUO, Y.; WANG, M.; YU, J.; ZHANG, B.; KWONG, P. D.; GRAHAM, B. S.; MASCOLA, J. R.; CHANG, J. Y.; YIN, M. T.; SOBIESZCZYK, M.; KYRATSOUS, C. A.; SHAPIRO, L.; SHENG, Z.; NAIR, M. S.; HUANG, Y.; HO, D. D. Increased resistance of sars-cov-2 variants b.1.351 and b.1.1.7 to antibody neutralization. **bioRxiv**. [s.l], p. rs.3.rs-155394, Jan. 2021.
- WANG, Y.; WANG, Y.; CHEN, Y.; QIN, Q. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. **Journal of Medical Virology**, [s.l], v.92, n. 6, p. 568-576, Jun.2020.
- WATSA M.; WILDLIFE DISEASE SURVEILLANCE FOCUS GROUP. Rigorous wildlife disease surveillance. **Science**, [s.l], v. 10;369, n. 6500, p.145-147, Jul.2020.
- WEINER, L.M.; WEBB, A.K.; LIMBAGO, B.; DUDECK, M.A.; PATEL, J.; KALLEN, A.J.; EDWARDS, J.R.; SIEVERT, D.M. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. **Infect. Control Hosp. Epidemiol**, [s.l], v. 37, n.11, p.1288-1301, Nov.2016.
- WIBMER, C. K.; AYRES, F.; HERMANUS, T.; MADZIVHANDILA, M.; KGAGUDI, P.; OOSTHUYSEN, B.; LAMBSON, B. E.; DE OLIVEIRA, T.; VERMEULEN, M.; VAN DER BERG, K.; ROSSOUW, T.; BOSWELL, M.; UECKERMANN, V.; MEIRING, S.; VON GOTTBURG, A.; COHEN, C.; MORRIS, L.; BHIMAN, J. N.; MOORE, P. L. Sars-cov-2 501y.V2 escapes neutralization by south african covid-19 donor plasma. **bioRxiv**. [s.l], v. 4, n. 8, p. 622-625, Apr. 2021.
- WIERSINGA, W.J.; RHODES, A.; CHENG, A.C.; PEACOCK, S.J.; PRESCOTT, H.C. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. **JAMA**, [s.l], v.25;324, n.8, p.782-793, Aug.2020.

WILLIAMSON, E.J.; WALKER, A.J.; BHASKARAN, K.; BACON, S.; BATES, C.; MORTON, C.E.; CURTIS, H.J.; MEHRKAR, A.; EVANS, D.; INGLESBY, P.; COCKBURN, J.; MCDONALD, H.I.; MACKENNA, B.; TOMLINSON, L.; DOUGLAS, I.J.; RENTSCH, C.T.; MATHUR, R.; WONG, A.Y.S.; GRIEVE, R.; HARRISON, D.; FORBES, H.; SCHULTZE, A.; CROKER, R.; PARRY, J.; HESTER, F.; HARPER, S.; PERERA, R.; EVANS, S.J.W.; SMEETH, L.; GOLDACRE, B. Open SAFELY: factors associated with COVID-19 death in 17 million patients. **Nature**, [s.l], v.584, n.7821, p.430-436, Aug.2020.

WOLF, D.; NEE, S.; HICKEY, N.S.; MARSCHOLLEK, M. Risk factors for Covid-19 severity and fatality: a structured literature review. **Infection**, [s.l], v. 49, n.1, p.15-28, Feb.2021.

WU, C.; CHEN, X.; CAI, Y.; XIA, J.; ZHOU, X.; XU, S.; HUANG, H.; ZHANG, L.; ZHOU, X.; DU, C.; ZHANG, Y.; SONG, J.; WANG, S.; CHAO, Y.; YANG, Z.; XU, J.; ZHOU, X.; CHEN, D.; XIONG, W.; XU, L.; ZHOU, F.; JIANG, J.; BAI, C.; ZHENG, J.; SONG, Y. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. **JAMA internal medicine**, [s.l], v. 1;180, n. 7, p. 934-943, Jul.2020

XIAOYAN, L.; JOSHI, A.; FLOMENBERG, P. Adenoviruses. In: Kaslow RA, StanberryLR, LeDuc JW, eds. **Viral Infections of Humans**: Springer, New York: 2014.

YADAV, P.; MOHANDAS, S.; SARKALE, P.; NYAYANIT, D.; SHETE, A.; SAHAY R.; POTDAR, V.; BARADKAR, S.; GUPTA, N.; SAPKAL, G.; ABRAHAM, P.; PANDA, S.; BHARGAVA, B. Isolation of SARS-CoV-2 B.1.1.28.2 (P2) variant and pathogenicity comparison with D614G variant in hamster model. **J Infect Public Health**, [s.l], v. 15, n.2, p.164-171, Feb.2022.

YAMADA, T.; SHIMIZU, K.; OGURA, H.; ASAHARA, T.; NOMOTO, K.; YAMAKAWA, K.; HAMASAKI, T.; NAKAHORI, Y.; OHNISHI, M.; KUWAGATA, Y.; SHIMAZU, T. Rapid and sustained long-term decrease of fecal short-chain fatty acids in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, [s.l], v. 39, n. 5, p.569-77, Jul.2015.

YAMAGISHI, M.; FUJIWARA, M.; NAKAMURA, H. Olfactory mucosal findings and clinical course in patients with olfactory disorders following upper respiratory viral infection. **Rhinology**, v. 32, n.3, p.:113-8, Sep.1994.

YAMAMOTO, S.; SAITO, M.; TAMURA, A.; PRAWISUDA, D.; MIZUTANI, T.; YOTSUYANAGI, H. The human microbiome and COVID-19: a systematic review. **PLoS ONE**, [s.l], v.23;16, n. 6, p.e0253293, Jun.2021.

YAN, C., SUN, H., ZHAO, H. Latest Surveillance Data on *Mycoplasma Pneumoniae* Infections in Children, suggesting a New Epidemic Occurring in Beijing. **J. Clin. Microbiol**, [s.l], v.54, n.5, p.1400-1, May.2016.

YAN, Y.; YANG, Y.; WANG, F.; REN, H.; ZHANG, S.; SHI, X.; YU, X.; DONG, K. Clinical characteristics and outcomes of patients with severe covid-19 with diabetes. **BMJopen diabetes research & care**, [s.l], v. 8, n. 1, p.e001343, 2020.

YANG, B.Y.; BARNARD, L.M.; EMERT, J.M.; DRUCKER, C.; SCHWARCZ, L.; COUNTS, C.R.; MURPHY, D.L.; GUAN, S.; KUME, K.; RODRIQUEZ, K.; JACINTO, T.; MAY, S.; SAYRE, M.R.; REA, T. Clinical Characteristics of Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Receiving Emergency Medical Services in King County, Washington. **JAMA Netw Open**, [s.l], v.1;3, n. 7, p. e2014549, Jul, 2020.

YANG, X.; YU, Y.; XU, J.; SHU, H.; XIA, J.; LIU, H.; WU, Y.; ZHANG, L.; YU, Z.; FANG, M.; YU, T.; WANG, Y.; PAN, S.; ZOU, X.; YUAN, S.; SHANG, Y. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. **Lancet Respir Med**, [s.l], v. 8, n. 5, p.475-481, May. 2020.

YEOH, Y.K.; ZUO, T.; LUI, G.C.; ZHANG, F.; LIU, Q.; LI, A.Y.; CHUNG, A.C.; CHEUNG, C.P.; TSO, E.Y.; FUNG, K.S.; CHAN, V.; LING, L.; JOYNT, G.; HUI, D.S.; CHOW, K.M.; NG, S.S.S.; LI, T.C.; NG, R.W.; YIP, T.C.; WONG, G.L.; CHAN, F.K.; WONG, C.K.; CHAN, P.K.; NG, S.C. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19. **Gut**, [s.l], v. 70, n.4, p.698-706, Apr. 2021.

YI, H.; YONG, D.; LEE, K.; CHO, Y.J.; CHUN, J. Profiling bacterial community in Upper respiratory tracts. **BMC Infect Dis**, [s.l], v. 13, n.14, p.583, Nov.2014.

XIE, X.; LIU, Y.; LIU, J.; ZHANG, X.; ZOU, J.; FONTES-GARFIAS, C. R.; XIA, H.; SWANSON, K. A.; CUTLER, M.; COOPER, D.; MENACHERY, V. D.; WEAVER, S. C.; DORMITZER, P. R.; SHI, P. Y. Neutralization of sars-cov-2 spike 69/70 deletion, e484k and n501y variants by bnt162b2 vaccine-elicited sera. **Nat. Med.** [s.l], v.4, p. 620–621, Apr.2021;

ZAKI, N.; MOHAMED, E.A. The estimations of the COVID-19 incubation period: A scoping reviews of the literature. **J. Infect. Public Health**, [s.l], v.14, n.5, p.638-646, May. 2021.

ZINATIZADEH, M.R.; ZARANDI, P.K.; GHIASI, M.; KOOSHKI, H.; MOHAMMADI, M.; AMANI, J.; REZAEI, N. Immunosenescence and inflamm-ageing in COVID-19. **Ageing Res Rev**, [s.l], v .84, n. 101818, Feb.2023

ZHANG, J.J.; DONG, X.; LIU, G-H.; GAO, Y-D. Risk and Protective Factors for COVID-19 Morbidity, Severity, and Mortality. **Clin Rev Allergy Immunol**, [s.l], v. 64, n. 1, p.90-107, Feb.2023.

ZHANG, L.; LAI, M.; AI, T.; LIAO, H.; HUANG, Y.; ZHANG, Y.; LIU, Y.; WANG, L.; HU, J. Analysis of Mycoplasma Pneumoniae Infection Among Children with Respiratory Tract Infections in Hospital in Chengdu from 2014 to 2020. **Transl. Pediatr**, [s.l], v.10, n.4, p. 990–997, Apr.2021.

ZHENG, Z.; PENG, F.; XU, B.; ZHAO, J.; LIU, H.; PENG, J.; LI, Q.; JIANG, C.; ZHOU, Y.; LIU, S.; YE, C.; ZHANG, P.; XING, Y.; GUO, H.; TANG, W. Risk factors of critical & Mortal COVID-19 cases: a systematic literature review and metaanalysis. **J Infect**, [s.l], v .81, p. e16–e25, Aug.2020.

ZHONGHUA, L.X.B.X.Z.Z. An Update on the Epidemiological Characteristics of Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19). **Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi**, [s.l], v. 41,n. 2, p. 139-144, Feb.2020.

ZHOU, F.; YU, T.; DU, R.; FAN, G.; LIU, Y.; LIU, Z.; XIANG, J.; WANG, Y.; SONG, B.; GU, X.; GUAN, L.; WEI, Y.; LI, H.; WU, X.; XU, J.; TU, S.; ZHANG, Y.; CHEN, H.; CAO, B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **Lancet**, [s.l], v.28, n.395, (10229) p. 1054-1062, Mar,2020.

Zoonoses Geneva .2020. World Health Organization- WHO, Health Topics. Disponivel em: 04/02/2022 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses> .Acesso.

ANEXOS A – Modelo de ficha clinica

02/09/2020

SEI/GOVMG - 18899017 - Nota Técnica

SINEP Gripe
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA GRIPE
31/03/2020

FICHA DE REGISTRO INDIVIDUAL - CASOS DE SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE HOSPITALIZADO

CASO DE SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE (SRAG-HOSPITALIZADO):
Indivíduo hospitalizado com febre, mesmo que referida, acompanhada de tosse ou dor de garganta e que apresente dispnéia ou saturação de O₂ < 95% ou desconforto respiratório ou que evoluiu para óbito por SRAG independente de internação.

1 Data do preenchimento da ficha de notificação:		2 Data de 1ª sintoma:	
3 UF:	4 Município:	Código (IBGE):	
5 Unidade de Saúde:		Código (CNES):	
6 CPF do cidadão: _____			
7 Nome: _____		8 Sexo: 1 - Msc. 2 - Fem. 9 - Igo	
9 Data de nascimento: _____		10 (ou) Idade: _____	
11 Gestante: _____		12 Raça/Cor: 1 - Branca 2 - Preta 3 - Amarela 4 - Parda 5 - Indígena 9 - Ignorado	
13 Se indígena, qual etnia? _____		14 Escolaridade: _____	
15 Ocupação: _____		16 Nome da mãe: _____	
17 CEP: _____		18 UF: _____	
19 Município: _____		Código (IBGE): _____	
20 Bairro: _____		21 Logradouro (Rua, Avenida, etc.): _____	
22 Nº: _____		23 Complemento (apto, casa, etc.): _____	
24 (DDD) Telefone: _____		25 Zona: 1 - Urbana 2 - Rural 3 - Fronteira 9 - Ignorado	
26 País: (se diferente do Brasil) _____		27 Paciente tem histórico de viagem internacional até 14 dias antes (do início dos sintomas)? 1 - Sim 2 - Não 9 - Igo	
28 Se sim: Qual país? _____		29 Em qual local? _____	
30 Data da viagem: _____		31 Data do retorno: _____	
32 É caso proveniente de surto de SG que evoluiu para SRAG? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		33 Trata-se de caso nosocomial (infecção adquirida no hospital)? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
34 Paciente trabalha ou tem contato direto com aves ou suínos? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		35 Sinais e Sintomas: 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
36 Possui fatores de risco/comorbidades? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		37 Recebeu vacina contra Gripe na última campanha? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
38 Data da vacinação: _____		39 Se < 6 meses: a mãe recebeu a vacina? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
40 Se sim, data: _____		41 a mãe amamentava a criança? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
42 Se >= 6 meses e <= 8 anos: Data da dose única 1/1: _____ (dose única para crianças vacinadas em campanhas de anos anteriores)		43 Data da 1ª dose: _____ (1ª dose para crianças vacinadas pela primeira vez)	
44 Data da 2ª dose: _____ (2ª dose para crianças vacinadas pela primeira vez)		45 1 - Houve antiviral para gripe? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
46 Qual antiviral? _____		47 Data início do tratamento: _____	
48 Houve internação? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		49 Data da internação por SRAG: _____	
50 UF de internação: _____		51 Município de internação: _____	
52 Unidade de Saúde de internação: _____		53 Código (IBGE): _____	
54 internado em UTI? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		55 Data da entrada na UTI: _____	
56 Data da saída da UTI: _____		57 Uso de suporte ventilatório: 1 - Sim, invasivo 2 - Sim, não invasivo 3 - Não 9 - Ignorado	
58 Raio X de Tórax: _____		59 Data do Raio X: _____	
60 Coletou amostra? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		61 Data da coleta: _____	
62 Tipo de amostra: _____		63 1 - Secção de base conjuntiva 2 - Lavadado brônco-aveolar 3 - Fecundo por aspirar 4 - Outra, qual? _____ 9 - Ignorado	
64 Nº Requisição do GAL: _____			
65 Resultado da IF/outra método que não seja Biologia Molecular: _____		66 Data do resultado da IF/outra método que não seja Biologia Molecular: _____	
67 Agente Etiológico - IF/outra método que não seja Biologia Molecular: _____		68 Positivo para influenza? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
69 Se sim, qual influenza? 1 - Influenza A 2 - Influenza B		70 Positivo para outros vírus? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
71 Se outros vírus respiratórios, qual(is)? (marcar X) _____		72 Laboratório que realizou IF/outra método que não seja Biologia Molecular: _____	
73 Código (CNES): _____		74 Resultado da RT-PCR/outra método por Biologia Molecular: _____	
75 Data do resultado RT-PCR/outra método por Biologia Molecular: _____		76 Agente Etiológico - RT-PCR/outra método por Biologia Molecular: _____	
77 Positivo para influenza? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		78 Se sim, qual influenza? 1 - Influenza A 2 - Influenza B	
79 Influenza A, qual subtipo? _____		80 Influenza B, qual linhagem? _____	
81 Positivo para outros vírus? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		82 Se outros vírus respiratórios, qual(is)? (marcar X) _____	
83 Laboratório que realizou RT-PCR/outra método por Biologia Molecular: _____		84 Código (CNES): _____	
85 Classificação final do caso: _____		86 Critério de Encerramento: _____	
87 Evolução do Caso: _____		88 Data da alta ou óbito: _____	
89 Data do Encerramento: _____		90 OBSERVAÇÕES: _____	

ANEXO II: FICHA DE REGISTRO INDIVIDUAL – CASOS DE SÍNDROME GRIPAL (Atualizada em 25/08/2020)

ANEXO B- Parecer consubstanciado do comitê de ética e pesquisa - UFJF.**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Aspectos epidemiológicos e moleculares da COVID-19 na Zona da Mata Mineira, construção de vetor recombinante com potencial para vacina oral e interferência do SARS-CoV-2 na estrutura da microbiota do trato respiratório superior, com implicações na evolução da doença.

Pesquisador: Vanessa Cordeiro Dias

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 2

CAAE: 31527720.3.0000.5147

Instituição Proponente: Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia/UFJF

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.057.992

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa. "Diante da emergência em saúde pública, mostra-se relevante o conhecimento de linhagens de SARS-CoV-2 circulantes em escala local, nacional ou

internacional para compreensão de aspectos epidemiológicos e biológicos virais (padrões de conservação e alterações genéticas), além da sua patogênese. Nesse contexto, dados epidemiológicos e suas peculiaridades regionais, além do conhecimento de genomas representativos das linhagens virais circulantes contribuirá para entendimento da evolução e variabilidade viral, além da prospecção de alvos com potencial imunizante. Além disso, apesar de as viroses respiratórias poderem evoluir de maneira grave com altas taxas de mortalidade e morbidade, particularmente em

idades extremas, a fisiopatologia destas doenças ainda não foi completamente elucidada, por envolver interações vírus-bactérias e imunológicas complexas. Assim, diagnóstico diferencial dos vírus influenza, vírus sincicial respiratório e rinovírus humano e o estudo da microbiota respiratória (negligenciada, quando comparada à intestinal) são de extrema relevância no contexto atual. Dados da literatura sugerem diferenças nessa microbiota entre pessoas saudáveis e com

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
Bairro: SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900
UF: MG **Município:** JUIZ DE FORA
Telefone: (32)2102-3788 **Fax:** (32)1102-3788 **E-mail:** cep.propesq@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 4.057.992

doenças respiratórias crônicas, e acredita-se que essas comunidades microbianas possam desempenhar papel importante na evolução de infecções respiratórias virais. Assim, buscamos a comparação da estrutura da microbiota do trato respiratório superior entre indivíduos com diagnóstico de COVID-19 e portadores de síndrome respiratória por outras etiologias (negativos no teste molecular para detecção de SARS-CoV-2) para compreensão, não apenas da evolução da doença, mas proposição de estratégias terapêuticas complementares que possam contribuir com melhor prognóstico em situações de agravo da doença. E ainda, nesta proposta, com abordagem que se mostra promissora, buscamos a obtenção de Bactérias do Ácido Lático (BAL) geneticamente modificadas pela incorporação de vetores recombinantes, que possam expressar proteínas heterólogas (epitopos virais conservados) com potencial de vacina oral."

Objetivo da Pesquisa:

"Objetivo Primário: Avaliar informações epidemiológicas, através de observação em prontuários eletrônicos (sexo, idade, grupo de risco, dentre outras) e clínicas (febre, coriza, falta de ar) de indivíduos cujos espécimes clínicos serão recebidos no Laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Microbiana, atualmente credenciado pela vigilância sanitária como Laboratório de Diagnóstico da COVID-19 em Juiz de Fora, com resultado positivo ou negativo para SARS -CoV-2. A partir destes espécimes clínicos, efetuar diagnóstico diferencial dos vírus influenza, vírus sincicial respiratório e rinovírus humano através de PCR em tempo real, obter o RNA viral e o DNA metagenômico representativo, e assim realizar o sequenciamento do genoma viral e

metataxonômico para comparação da estrutura da microbiota do trato respiratório superior dos indivíduos com diagnóstico positivo de COVID-19 e daqueles portadores de síndrome respiratória por outras etiologias (negativos no teste molecular para detecção de SARS-CoV-2."

"Objetivo Secundário: a) Obter o genoma completo de linhagens virais representativas após sequenciamento do RNA viral, a partir de alíquotas de amostra de secreção de trato respiratório superior (swab de naso/orofaringe; lavado de nasofaringe; aspirado de nasofaringe; aspirado broncoalveolar de pacientes com suspeita clínica e indicação de diagnóstico por PCR em tempo real, em Laboratório da UFJF credenciado pela Vigilância Sanitária de Juiz de Fora da UFJF para avaliação da diversidade genética do SARS-CoV-2 em amostras positivas; b) Obter o DNA metagenômico dos espécimes clínicos e determinar a carga de Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenza, Mycoplasma pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Enterobacteriaceae, Staphylococcus sp.; realizar o sequenciamento a partir do DNA metagenômico obtido, para correlação da quantificação bacteriana com os dados metataxonômicos e condição clínica dos

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@ufff.edu.br



Continuação do Parecer: 4.057.992

indivíduos com diagnóstico positivo de COVID-19 ou síndrome respiratória por outras etiologias.c) Identificar nos genomas obtidos, baseado na literatura, genes codificadores para proteínas de SARS-CoV-2 com potencial vacinal, realizar amplificação e clonagem dos genes candidatos em vetores de expressão heteróloga e avaliar a expressão e estabilidade dos vetores construídos a partir linhagens de Bactérias do Ácido Láctico (BAL) para uso como vacinais orais contra SARS-COV-2."

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

"A pesquisa proposta é de risco mínimo, onde prevê-se a avaliação de dados de prontuários eletrônicos, sem divulgação da identidade dos participantes. Para minimizar os riscos, todos os prontuários serão codificados, garantindo o anonimato dos participantes. Esta pesquisa será baseada na utilização de espécimes clínicos do trato respiratório superior (swabs de nasofaringe e orofaringe), que já farão parte da conduta médica, ou seja, o espécime já chegará ao laboratório coletado pela equipe de assistência médica (independente da nossa equipe de pesquisa), como procedimento necessário ao diagnóstico da COVID-19 e assistência à saúde destes indivíduos. Após a realização do diagnóstico, uma alíquota excedente do espécime, antes do descarte, será utilizada para a pesquisa proposta, o que não ocasiona, nesse caso, risco direto ao participante. Construção de um banco de dados acerca da epidemiologia da infecção por COVID-19 e outros vírus respiratórios em Juiz de Fora - Minas Gerais e região, bem como de tipos virais circulantes e de microbiota das vias aéreas superiores desses participantes. Assim, essas informações poderão contribuir para implementação de estratégias de diagnóstico rápido e assertivo. Diante dessa emergência em saúde pública mundial, outro benefício desta pesquisa consiste na identificação de possíveis genes codificadores para proteínas de SARS-CoV-2 com potencial vacinal, construídos a partir de linhagens de Bactérias do Ácido Láctico (BAL), para uso como vacinais orais contra SARS-CoV-2."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo de pesquisa está em configuração adequada, apresenta FOLHA DE ROSTO devidamente preenchida, com o título em português, identifica o patrocinador pela pesquisa,

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@ufff.edu.br



Continuação do Parecer: 4.057.992

estando de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra a; e 3.4.1 item 16. Apresenta o TERMO DE DISPENSA DO TCLE de acordo com a Resolução CNS 466 de 2012, item: IV.8. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas no Manual Operacional para CPes. Apresenta DECLARAÇÃO de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra h.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: dezembro de 2021.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e com a Norma Operacional Nº001/2013 CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1546232.pdf	25/05/2020 21:13:22		Aceito
Outros	img051.pdf	25/05/2020 21:12:11	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Outros	Carta.docx	25/05/2020 15:09:11	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	24/05/2020 19:36:30	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorepositorio.pdf	06/05/2020 21:33:53	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@ufff.edu.br



Continuação do Parecer: 4.057.992

Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	06/05/2020 21:32:32	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE.doc	29/04/2020 19:46:38	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito
Declaração do Patrocinador	Patrocinador.doc	26/04/2020 23:21:09	Vanessa Cordeiro Dias	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 29 de Maio de 2020

**Assinado por:
Jubel Barreto
(Coordenador(a))**

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
Bairro: SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900
UF: MG **Município:** JUIZ DE FORA
Telefone: (32)2102-3788 **Fax:** (32)1102-3788 **E-mail:** cep.propesq@ufjf.edu.br

**ANEXO C- TABELA -3 - Matriz base para
análise multivariada**

Grupo	Sexo	Escolaridade	Vacina da Gripe	Comorbidades	Sintomas
G1	F	Ensino Médio	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G1	F	Ensino Superior	Sem informação	Sem comorbidade	Assintomático
G1	M	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Assintomático
G1	F	Ensino Superior	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	M	Ensino Superior	Não	Sem comorbidade	Assintomático
G1	M	Ensino Superior	Sim	1 comorbidade	Assintomático
G1	M	Ensino fundamental	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	F	Ensino Médio	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	M	Ensino Médio	Sim	Sem informação	Sintomas respiratórios
G1	F	Não alfabetizado	Não	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G1	M	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G1	F	Ensino Superior	Sim	1 comorbidade	Sem informação
G1	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Assintomático
G1	F	Ensino Fundamental	Sim	Sem comorbidade	Assintomático
G1	F	Ensino Médio	Sim	1 comorbidade	Sintomas não respiratórios
G1	F	Ignorado	Ignorado	1 comorbidade	Sem informação
G1	F	Sem informação	Não	2 ou mais comorbidades	Sintomas não respiratórios
G1	M	Ignorado	Ignorado	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G1	F	Sem informação	Não	Sem comorbidade	Sem informação
G1	M	Ignorado	Sem informação	Sem informação	Assintomático
G1	F	Ensino Superior	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	M	Ensino Médio	Sim	1 comorbidade	Assintomático
G1	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas não respiratórios
G1	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G1	M	Ensino Médio	Não	1 comorbidade	Sem informação
G1	M	Ensino Superior	Sim	1 comorbidade	Assintomático
G1	M	Ensino Médio	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	F	Ensino Médio	Ignorado	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G1	M	Ensino Médio	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios

G1	M	Ensino Médio	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	F	Sem informação	Sim	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios
G1	F	Ignorado	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	F	Ensino Médio	Sim	Sem comorbidade	Assintomático
G1	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	F	Ensino Médio	Sim	Sem comorbidade	Sem informação
G1	M	Ensino Superior	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G1	M	Ensino Superior	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios

Grupo	Sexo	Escolaridade	Vacina da Gripe	Comorbidades	Sintomas
G2	F	Ensino Médio	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G2	F	Ensino Superior	Sim	1 comorbidade	Sintomas não respiratórios
G2	M	Ensino Médio	Não	Sem informação	Sintomas respiratórios
G2	M	Ensino Médio	Sim	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Médio	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios
G2	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G2	F	Ensino Superior	Sim	Sem informação	Sem informação
G2	F	Ensino fundamental	Não	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Ensino Fundamental	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Não alfabetizado	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Superior	Sim	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ignorado	Sim	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Sem informação	Não	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Ignorado	Não	Sem informação	Sintomas respiratórios*
G2	F	Sem informação	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Ensino fundamental	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ignorado	Ignorado	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Sem informação	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios
G2	M	Ensino fundamental	Ignorado	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ignorado	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios
G2	F	Sem informação	Não	Não	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Ignorado	Sem informação	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Ensino Superior	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ignorado	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Médio	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Fundamental	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Médio	Não	Nao	Sintomas respiratórios e não respiratórios

G2	F	Ensino Médio	Não	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Ensino Fundamental	Não	Não	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Sem informação	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ignorado	Não	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Sem informação	Não	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Não alfabetizado	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	M	Ensino Médio	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Sem informação	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G2	F	Ensino Médio	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios

* Recém-nascido

Grupo	Sexo	Escolaridade	Vacina da Gripe	Comorbidades	Sintomas
G3	F	Ensino superior	Sim	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ignorado	Sem informação	Sem informação	Sintomas respiratórios
G3	F	Ensino fundamental	Sem informação	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G3	M	Ensino superior	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Sem informação	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ensino médio	Não	1 comorbidade	Sintomas respiratórios
G3	M	Sem informação	Ignorado	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ignorado	Ignorado	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G3	F	Ensino superior	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino fundamental	Não	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios
G3	F	Ignorado	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino superior	Sem informação	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino superior	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino fundamental	Sim	1 comorbidade	Sem informação
G3	F	Ensino superior	Sim	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ensino médio	Sim	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ensino médio	Sim	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ensino superior	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G3	F	Ignorado	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ignorado	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios
G3	F	Sem informação	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios
G3	F	Sem informação	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ensino fundamental	Não	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ensino fundamental	Não	1 comorbidade	Sintomas respiratórios
G3	M	Ensino fundamental	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios
G3	F	Ensino fundamental	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ensino fundamental	Sim	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino fundamental	Sim	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Sem informação	Não	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Sem informação	Sim	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios

G3	M	Não alfabetizado	Ignorado	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Não alfabetizado	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino superior	Ignorado	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino fundamental	Ignorado	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	M	Ensino fundamental	Ignorado	Sem comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Sem informação	Sim	1 comorbidade	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ensino fundamental	Ignorado	2 ou mais comorbidades	Sintomas respiratórios e não respiratórios
G3	F	Ignorado	Não	Sem informação	Sintomas respiratórios e não respiratórios