

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia



Dissertação

Avaliação da presença de *Mycobacterium tuberculosis*, vírus influenza e vírus sincicial respiratório em indivíduos infectados por SARS-CoV-2 na região sul do Rio Grande Do Sul

Alice Prestes da Silva

Pelotas, 2023

Alice Prestes da Silva

Avaliação da presença de *Mycobacterium tuberculosis*, vírus influenza e vírus sincicial respiratório em indivíduos infectados por SARS-CoV-2 na região sul do Rio Grande Do Sul

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (área do conhecimento: Microbiologia).

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Casquero Cunha

Coorientador: Dr. Kauê Rodriguez Martins

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S586a Silva, Alice Prestes da

Avaliação da presença de *Mycobacterium tuberculosis*, vírus influenza e vírus sincicial respiratório em indivíduos infectados por SARS-CoV-2 na região sul do Rio Grande do Sul / Alice Prestes da Silva ; Rodrigo Casquero Cunha, orientador. — Pelotas, 2023.

52 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Saúde pública. 2. Síndrome gripal. 3. SRAG. 4. Coronavírus. 5. Bacilos de Koch. I. Cunha, Rodrigo Casquero, orient. II. Título.

CDD : 614.518

Alice Prestes da Silva

Avaliação da presença de *Mycobacterium tuberculosis*, vírus influenza e vírus sincicial respiratório em indivíduos infectados por SARS-CoV-2 na região sul do Rio Grande do Sul

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 23 de junho de 2023.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Rodrigo Casquero Cunha (Orientador)
Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal de Pelotas

Dr^a. Neida Lucia Conrad
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Sérgio Jorge
Doutor em Veterinária Preventiva pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Patrícia da Silva Nascente
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

**Dedico este trabalho à minha mãe, pai (*in
memorian*) e irmãs.**

***“Educação não transforma o mundo. Educação muda as
pessoas. Pessoas transformam o mundo.”
(Paulo Freire)***

Resumo

SILVA, Alice Prestes da. **Avaliação da presença de *Mycobacterium tuberculosis*, vírus influenza e vírus sincicial respiratório em indivíduos infectados por SARS-CoV-2 na região sul do Rio Grande do Sul**. 2023. 54f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

COVID-19 é a doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, que pode evoluir para síndrome respiratória aguda grave (SRAG). Em 2019, o vírus espalhou-se rapidamente, causando uma pandemia. Devido à falta de manejo clínico adequado com a doença, várias coinfeções por outros patógenos, principalmente respiratórios, foram relatadas, dentre eles a bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, vírus sincicial respiratório e influenza. Os sintomas causados por estes microrganismos, ambos causadores de síndrome gripal (SG), são semelhantes à COVID-19 e representam um grande fator de risco para os indivíduos infectados. O objetivo deste trabalho foi detectar a presença DNA de *M. tuberculosis*, RNA de vírus influenza e RNA de vírus respiratório sincicial, pelo teste ouro, RT-PCR em tempo real. As análises foram realizadas a partir de amostras de pacientes positivos para COVID-19, coletadas e processadas no laboratório M&S Análises Clínicas. No presente estudo não foram detectados DNA de *M. tuberculosis*, nem RNA de influenza vírus ou RNA de vírus sincicial respiratório nas amostras analisadas.

Palavras-chave: saúde pública; síndrome gripal; SRAG; coronavírus; bacilos de Koch.

Abstract

SILVA, Alice Prestes da. **Evaluation of the presence of *Mycobacterium tuberculosis*, influenza viruses and respiratory syncytial viruses in individuals infected with SARS-CoV-2 in the southern region of Rio Grande do Sul**. 2023. 54 f. Dissertation (Master degree in Biological Sciences) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

COVID-19 is the disease caused by the SARS-CoV-2 virus, which can progress to severe acute respiratory syndrome (SARS). In 2019, the virus spread rapidly, causing a pandemic. Due to the lack of adequate clinical management with the disease, several co-infections by other pathogens, mainly respiratory, have been reported, among them the bacterium *Mycobacterium tuberculosis*, respiratory syncytial virus, and influenza. The symptoms caused by these microorganisms, both causes of flu syndrome, are similar to COVID-19 and present a major risk factor for infected individuals. The aim of this study was to detect the presence of *M. tuberculosis* DNA, influenza viruses RNA and respiratory syncytial viruses RNA. The analyses were performed from samples of COVID-19 positive patients collected and processed in the M&S Clinical Analysis laboratory. In the present study, *M. tuberculosis* DNA, influenza virus RNA, or respiratory syncytial virus RNA were not detected in the analyzed samples.

Keywords: public health; flu syndrome; SARS; coronavirus; Koch's bacillus.

Lista de figuras:

Revisão de Literatura

Figura 1	Estrutura SARS-CoV-2: M: proteína de membrana; S: proteína Spike (ligação da espícula viral aos receptores celulares); E: envelope; N: proteína do nucleocapsídeo.....	14
Figura 2	Ciclo de vida do SARS-CoV-2.....	14
Figura 3	Coeficiente de Incidência de tuberculose no RS e no Brasil, 2016 a 2021; SINAN/RS.....	17
Figura 4	Casos diagnosticados de tuberculose, RS; 2019 a 2021; SINAN/RS....	20

Artigo 2

Figura 1	Coeficiente de mortalidade por tuberculose (por 100 mil habitantes) nas regiões sul do Rio Grande do Sul.....	38
----------	---	----

Sumário

1 Introdução	9
1.1 Objetivo geral	11
1.2 Objetivos específicos	11
2 Revisão de literatura	12
2.1 COVID-19	12
2.1.1 Patogenicidade e transmissão	12
2.1.2 Estrutura e Replicação viral	13
2.1.3 Sintomatologia	15
2.1.4 Diagnóstico	15
2.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	16
2.2.1 Fisiopatologia da doença	17
2.2.2 Sintomatologia	19
2.2.3 Diagnóstico	19
2.3 Influenza	21
2.4 Vírus Sincicial Respiratório	22
2.5 Coinfecção	22
3 Artigos	24
3.1 Artigo1	24
3.2 Artigo 2	31
4 Conclusões gerais	41
Referências	42
Anexos	48

1 Introdução

O vírus SARS-CoV-2 pertencente à família Coronaviridae, é um Betacoronavírus de fita simples que está incluso no subgênero Sarbecovírus, linhagem B do gênero β -CoV. Se apresenta em uma forma pleomórfica e possui semelhança esférica, caracterizada por uma “coroa” externa com picos de proteína Spike. Além disso, seu genoma codifica 16 proteínas não estruturais (nsp 1-16), como a RNA dependente RNA-polimerase (RdRp, nsp12) e a helicase (nsp 13). Ainda possui 4 proteínas estruturais, proteína spike (S), proteína de membrana (M) e as glicoproteínas do nucleocapsídeo (N) e do envelope (E) (RUSSO *et al.*, 2020).

Sua transmissão ocorre por meio da inalação ou contato direto com gotículas infectadas e o período de incubação varia de 1 a 14 dias. Mesmo assintomático, o indivíduo pode transmitir o patógeno (ESTEVÃO, 2020). Os sintomas mais comuns relatados são, febre, tosse seca, dispneia, mialgia e fadiga. Casos considerados graves costumam apresentar sinais e sintomas comuns de pneumonia viral, na qual pode evoluir para uma Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) (ESTEVÃO, 2020).

O SARS-CoV-2 tornou-se um novo problema de saúde pública no século 21 (RATHOD,2022). O primeiro caso foi relatado inicialmente em Wuhan, na China, no ano de 2019, sendo assim chamado de COVID-19. Em 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) decretou a mais recente pandemia (ALOSAIMI *et al.*, 2021).

Além de SARS-CoV-2, *Mycobacterium tuberculosis*, bactéria que causa tuberculose (TB), também é considerado um grave problema de saúde pública há muitos anos. Seus sintomas são semelhantes aos da COVID-19. Ressalta-se que ambas podem prejudicar o sistema imunológico desencadeando um quadro clínico grave no indivíduo infectado (LAWATI *et al.*, 2021).

No mundo, a incidência de casos de tuberculose é em torno de 8,8 milhões de pessoas. O estado do Rio Grande do Sul (RS) está entre os estados brasileiros com maior número de pessoas infectadas. A cidade de Pelotas, RS, é um dos municípios que

possuem altas taxas de indivíduos com a doença. É, também, considerada referência regional para o tratamento da doença (VASCONCELLOS *et al.*, 2008).

O diagnóstico é difícil quando as duas doenças ocorrem de forma simultânea, pois os sintomas são semelhantes, entretanto, apresentam algumas peculiaridades como, por exemplo, a tuberculose pode permanecer latente no organismo por várias décadas sem que progrida para uma tuberculose ativa. A preocupação evidente é que o diagnóstico de tuberculose diminuiu durante a pandemia de COVID-19, contribuindo assim com a incidência e mortalidade (COSTA *et al.*, 2022).

A COVID-19 e a tuberculose necessitam de controle transversal; ambas são altamente infectocontagiosas, facilitando a interação entre as duas. Relata-se que o contágio do SARS-CoV-2 pode ocorrer antes ou depois da infecção por *M. tuberculosis*, sendo que pacientes com coinfeção necessitam de mais tempo de internação hospitalar, gerando também uma sobrecarga no sistema de saúde pública (COSTA *et al.* 2022).

Outros patógenos que apresentam problemas para a saúde pública são o vírus respiratório sincicial (VSR) e o vírus influenza A e B. A infecção pelo VSR tem causado taxas significativas de hospitalizações e mortalidade, principalmente em crianças, uma probabilidade é a falta de vacinação contra o patógeno (COUTINHO, 2022). Medidas como proteção individual e isolamento ajudaram a diminuir a incidência deste vírus (ACHANGWA *et al.*, 2022).

A gripe é uma doença respiratória infecciosa, em humanos, é causada pelos vírus influenza A e influenza B, podem causar sintomas leves e agravar. São caracterizados por epidemias sazonais anuais, mas podem causar surtos pandêmicos globais esporádicos e imprevisíveis. A gripe pandêmica é caracterizada pela introdução de uma nova cepa do vírus influenza A que antigenicamente é muito diferente das cepas anteriormente circulantes. A ausência de imunidade pré-existente em humanos é frequentemente associada à gravidade da infecção e a um aumento da mortalidade (SELLERS *et al.*, 2017).

1.1 Objetivo geral

Investigar a presença de DNA de *M. tuberculosis* e RNA de vírus influenza e vírus sincicial respiratório em amostras positivas para COVID-19, por meio de diagnóstico molecular.

1.2 Objetivos específicos

- Pesquisar através da literatura, o vírus sincicial respiratório, influenza, *Mycobacterium tuberculosis* e COVID-19 e
- Selecionar 800 amostras de swab orofaríngeo de pacientes infectados por SARS-CoV-2 na região sul do Rio Grande do Sul;
- Extrair DNA e RNA das amostras selecionadas.
- Realizar RT-PCR em tempo real para detecção de DNA do bacilo *M. tuberculosis*.
- Estabelecer se há a coinfeção com *M. tuberculosis*, influenza e vírus respiratório sincicial em amostras de pacientes positivos para SARS-CoV-2.

2 Revisão da literatura

2.1 COVID-19

A síndrome respiratória aguda grave (SRAG) é causada pelo vírus SARS-CoV-2, também chamado de “novo coronavírus” devido as diferenças em seu genoma comparado aos coronavírus previamente identificados. É um vírus de RNA fita simples, agente etiológico da COVID-19 (CORTESE *et al.*, 2020). O SARS-CoV-2 é membro da família Coronaviridae e subfamília *Coronavirinae*, que são vírus grandes, envelopados, possuem 65 e 125 nm de diâmetro, sob microscopia eletrônica, os vírions assumem uma forma aproximadamente esférica e possuem extensões (glicoproteínas), comumente chamadas de espículas, em sua superfície (CORTESE *et al.*, 2020). Esses picos são semelhantes a uma coroa que é a base para o nome dessa família de vírus. Patógenos pertencentes a subfamília *Coronavirinae* infectam uma grande maioria de mamíferos, causando diversas síndromes clínicas (SHEREEN *et al.*, 2020).

Os coronavírus são agrupados em quatro subgrupos com base na homologia de sequências: alfa, beta, gama e delta. Até o momento, sabe-se que sete coronavírus infectam humanos (CUI *et al.*, 2019). Quatro (dois α -CoVs e dois β -CoVs) causam infecção mais leves, semelhantes a um resfriado, mas três deles, incluindo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV), coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e o descoberto recentemente SARS-CoV-2, levam a doença grave e até mesmo fatal (GUO *et al.*, 2019).

2.1.1 Patogenicidade e transmissão

A transmissão do SARS-CoV-2 pode ocorrer especialmente por meio de gotículas respiratórias infectadas, através de contato direto, indireto ou até mesmo próximo aos indivíduos infectados (MURALIDAR *et al.*, 2020). O vírus tem como alvo células da

mucosa nasal, conjuntiva e oral. Basta que partículas respiratórias sejam inaladas ou depositadas nestas células para que haja a infecção (GU *et al.*, 2007).

A infecção pelo SARS-CoV-2 desencadeia uma resposta imune inflamatória inicial, durante a qual os glóbulos brancos originários dos gânglios linfáticos, como as células T auxiliares e as células T citotóxicas infiltram-se no local na tentativa de eliminar as células infectadas pelo vírus (HENRY *et al.*, 2019). Em indivíduos que desenvolvem doença mais grave, o SARS-CoV-2 induz uma resposta imune desordenada. No entanto, uma superprodução de citocinas pró-inflamatórias leva à chamada “tempestade de citocinas” que, quando não remediada, podem levar a morte. A “tempestade de citocinas” pode afetar vários órgãos, incluindo fígado, rins e pulmões (LIU *et al.*, 2020).

Quando os pulmões são afetados, as células epiteliais pulmonares são lisadas, fazendo com que eles se encham de líquido. Esse fator pode induzir uma pneumonia e, em casos graves, pode causar síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), possivelmente acarretando uma insuficiência pulmonar e morte (LIU *et al.*, 2020). Por fim, as pessoas com COVID-19 podem não mostrar sinais e sintomas da doença por uma semana ou mais, apesar disto, podem excretar o vírus e contaminar outros indivíduos, mesmo sendo assintomáticas (WOLFEL *et al.*, 2020).

2.1.2 Estrutura e Replicação Viral

O SARS-CoV-2 é composto por uma molécula de RNA de fita simples, alojada dentro de uma membrana de ácidos graxos, o envelope. O RNA viral contém sequências reguladoras de transcrição (TRS-L), e apresenta de 13 a 15 quadros de leituras abertos (ORFs). Eles codificam enzimas importantes para a replicação viral, como a RNA-polimerase RNA-dependente (RdRp), a helicase e endonuclease, além de proteínas estruturais como a proteína spike (S), proteína de membrana (M), proteína de envelope (E), proteína do nucleocapsídeo (N) e proteínas acessórias. Cada ORF também tem suas próprias sequências transcricionais regulatórias (TRSs) (THOMAS *et al.*, 2020). A estrutura viral está representada na Figura 1.

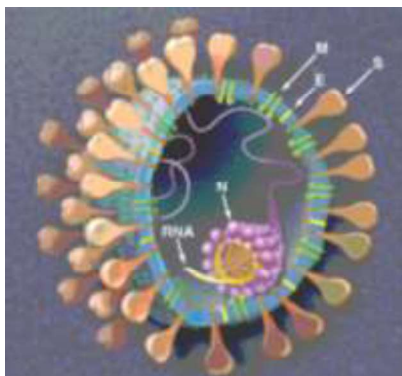


Figura 1 - Estrutura de SARS-CoV-2: M: proteína de membrana; S: proteína Spike; E: envelope; N: proteína do nucleocapsídeo. Fonte: Uzunian (2020).

Todos os vírus, incluindo o SARS-CoV-2, utilizam mecanismos e entram nas células hospedeiras e modificam de forma eficiente os fatores celulares para que seja facilitada a sua replicação (representação na Figura 2) (CHOUNDHRY *et al.*, 2020).

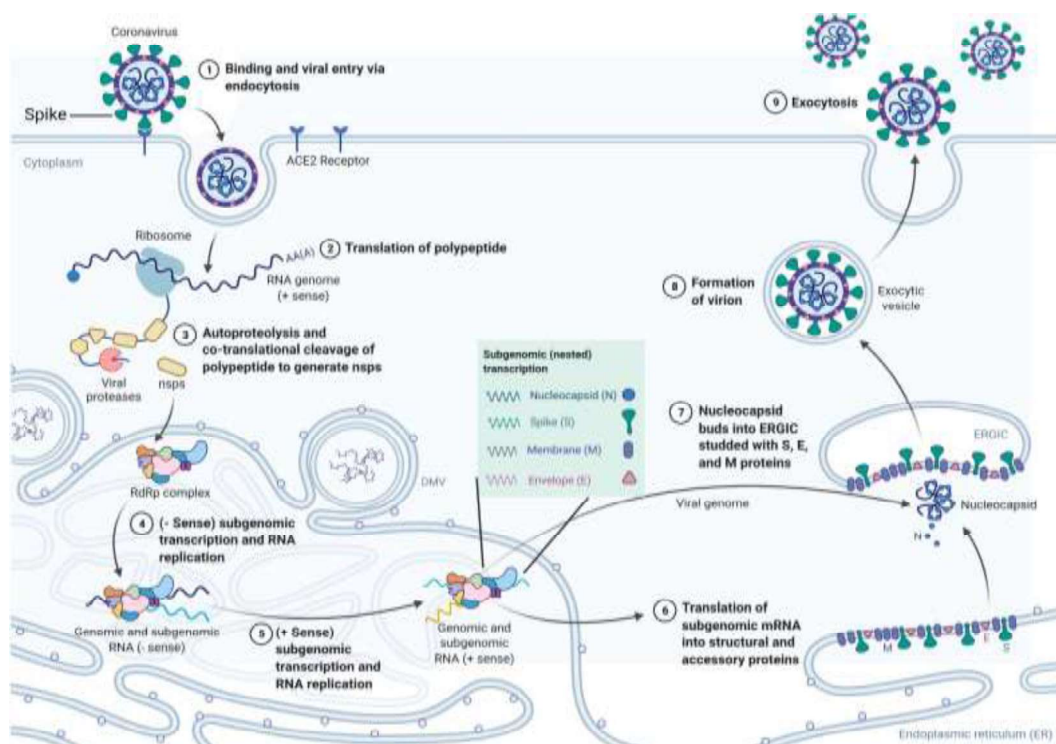


Figura 2 - Ciclo de vida do SARS-CoV-2. Fonte: CHOUNDHRY *et al.*, 2020.

2.1.3 Sintomatologia

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os sinais e sintomas da COVID-19 são semelhantes aos de uma gripe comum, mas variam de pessoa para pessoa, podendo ser leves, ou até mesmo graves, como uma pneumonia e SRAG. Alguns indivíduos infectados desenvolvem a forma leve da doença, com sintomas como mal-estar, febre, cansaço, tosse, dispneia, anorexia, dor de garganta, dor de cabeça, coriza, alguns ainda podem ter diarreia, náuseas e vômitos (OMS 2020). Estes sinais e sintomas podem ser piores em idosos, pessoas imunocomprometidas e com comorbidades pré-existentes, podendo agravar rapidamente, levando até mesmo a morte (OMS 2020).

2.1.4 Diagnóstico

A reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) é um teste molecular de alta sensibilidade e especificidade, considerado no padrão ouro no diagnóstico da COVID-19. Este teste deve ser realizado entre o terceiro e sétimo dia de sintoma, utilizando amostra de secreção de nasofaríngea, a fim de garantir maior precisão do método e reduzir resultados falso-negativos. Além de amostras nasofaríngeas, também se utiliza amostras orofaríngeas, escarro, saliva, aspirado traqueobrônquico, lavado bronco-alveolar, swabs retais e amostras fecais (WOEFEL *et al.*, 2019).

Contudo, os resultados do RT-PCR não são imediatos, pensando nisto, foram desenvolvidos testes de imunocromatografia de fluxo lateral de antígeno (testes rápidos), os quais têm um baixo custo e um tempo menor de análise, apresentam o resultado em 15-30 minutos (KOCZULA; GALLOTA, 2016). Apesar de amplamente utilizados, os testes rápidos, quando realizados sem seguir recomendações, podem apresentar redução na sensibilidade e especificidade, acarretando resultados falsos negativos com taxa de erro em torno de 75%, ocasionando insegurança e incerteza para interpretação diagnóstica (OLIVEIRA *et al.*, 2022). Exames laboratoriais e de imagem também auxiliam no diagnóstico da doença, como radiografia e tomografia de tórax (KOCZULA; GALLOTA, 2016).

2.2 *Mycobacterium tuberculosis*

A tuberculose (TB) é uma infecção crônica e progressiva, causada por *M. tuberculosis*, um bacilo aeróbio de crescimento lento. A TB pode acometer vários órgãos do corpo humano, mas os pulmões são os principais atingidos pela bactéria, provocando sintomas como expectoração, tosse, febre, perda de peso e mal-estar. Está entre as doenças infectocontagiosas com altas taxas de mortalidade em adultos, principalmente em países com média e baixa renda (GOMAR et. al., 2022).

Além de *M. tuberculosis*, outras bactérias podem causar esta infecção (GOMAR et. al., 2022). O complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) é um grupo de micobactérias geneticamente homogêneo, são caracterizados por altas taxas de similaridade em nível de nucleotídeos e sequências idênticas de 16s rRNA, diferindo-se em termos de tropismos, fenótipos e patogenicidade do hospedeiro (VELAYATI; FARNIA, 2017).

O CTM inclui *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. suricattae*, *M. mungi*, *Mycobacterium dassie* e *M. oryx*. Das espécies citadas, *M. tuberculosis* é a bactéria mais conhecida, altamente infectante e capaz de contaminar animais que tenham contato com humanos (VELAYATI; FARNIA, 2017).

Dentre as bactérias citadas, *M. bovis* apresenta um amplo espectro de infecção no hospedeiro, sua transmissão pode ser pelo leite contaminado e era comum principalmente antes de ser pasteurizado. Nos Estados Unidos e na Europa, 1 a 2% dos casos da doença ocorrem por *M. bovis* (GALLIVAN; SHAH, 2015).

O bacilo *M. tuberculosis* faz parte das micobactérias de interesse clínico, também é conhecida como bacilo de Koch, tendo sido descoberto por Robert Koch em 1882. A transmissão ocorre por gotículas e aerossóis, a sua estrutura é não esporulada, não possui flagelos e cápsula, é intracelular facultativa e seu tamanho varia entre 1 e 10 µm em comprimento (COSTA et al., 2022).

Estudos indicam fatores de risco de contaminação voltados ao contexto social, como pobreza, desnutrição, além de comorbidades ligado a outras doenças, aumentando as chances de coinfeções por outros agentes (COSTA, et al., 2022). O estado do Rio

Grande do Sul (RS) possui uma grande incidência de casos de tuberculose (LIMA *et al.*, 2013). No ano de 2011 foram notificados 46,1 casos por 100.000 habitantes, colocando o estado em 5º lugar no ranking nacional. Quinze municípios foram considerados prioritários para o controle da doença, entre os quais está a cidade de Pelotas. No ano de 2008, o município teve a taxa de 46,6 casos por 100.000 habitantes (LIMA *et al.*, 2013). No ano de 2021, o Rio Grande do Sul ainda permaneceu com a incidência acima da média (Figura 3).

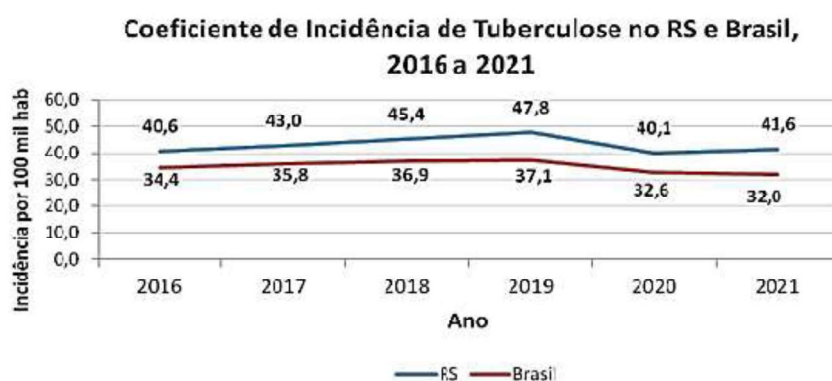


Figura 3: Coeficiente de Incidência de Tuberculose no Rio Grande do Sul e Brasil, de 2016 a 2021. Fonte: SINAN/RS.

2.2.1 Fisiopatologia da doença

Mycobacterium tuberculosis invade e se replica em pneumócitos e macrófagos alveolares usando receptores. Dessa forma, macrófagos alveolares fagocitam o patógeno antes de serem transferidos para lisossomos e sua posterior destruição. Uma infecção bem-sucedida causada por este patógeno depende do seu encontro com os fatores da célula hospedeira mais especificamente os macrófagos alveolares (FERGUSON *et al.*, 2004). Quando o bacilo é inalado, primeiramente ele entra nos pulmões e atinge o espaço alveolar, onde os macrófagos alveolares atuam como a primeira linha de defesa, se os bacilos não forem eliminados, a bactéria consegue invadir o tecido pulmonar, utilizando seus próprios mecanismos ou pelos macrófagos infectados (GUTIERREZ, 2022). A sobrevivência intracelular deste patógeno depende da sua capacidade de interromper a acidificação do fagossomo dentro de macrófagos infectados

e consequentemente impedir a fusão fagossomo-lisossomo (STURGILL-KOSZYCKI *et al.*, 1994). As células dendríticas e os monócitos, se infectados, transportam a bactéria até os gânglios linfáticos pulmonares, onde ocorre uma mudança do microambiente com a liberação de citocinas que irão fazer com que células T e B sejam atraídas, formando um granuloma. Inicia-se a replicação dos bacilos dentro deste granuloma e, caso ele seja rompido, as bactérias podem se espalhar para os outros órgãos e, quando chegam no trato respiratório ou na corrente sanguínea, o hospedeiro torna-se infeccioso tem-se, assim, o caso de tuberculose ativa (GUTIERREZ, 2022).

Em relação a resposta inflamatória, este patógeno busca evitar uma estimulação excessiva do sistema imunológico, assim ocasiona-se uma infecção crônica associada a formação de granuloma e necrobiose, interferindo no microambiente e na arquitetura pulmonar (GROTTI *et al.* 2021). A infecção causada por este patógeno pode ser latente ou ativa. No hospedeiro, a infecção latente ocorre após a inalação de microrganismos. Os bacilos entram e proliferam-se de forma intracelular dentro dos macrófagos alveolares pulmonares (FENTON; VERMULEN, 1996).

Durante o processo de infecção inicial, entre 2-4 semanas, a imunidade do hospedeiro pode ser comprometida e os bacilos podem escapar dos macrófagos infectados, causando uma bacteremia transitória com disseminação desses bacilos por todo o corpo (DANNENBERG; ROOK, 1994). Indivíduos com tuberculose ativa, excretam gotículas com *M. tuberculosis* ou aerossolização das gotículas, dessa maneira pessoas próximas ficam em risco de serem infectadas. A transmissão por aerossóis pode ser por meio de tosse, fala e espirros. Estas gotículas podem permanecer suspensas no ar até serem inaladas ou ventiladas externamente. Os portadores da infecção latente podem desenvolver a doença ativa no futuro, sendo alguns portadores de tuberculose subclínica, que ocorre quando há doença ativa com cultura positiva, porém assintomáticos (GUTIERREZ, 2022).

No que diz respeito a coinfeção entre *M. tuberculosis* e COVID-19, SAHAH *et al.* (2022) comentam que a COVID-19 agrava o estado da tuberculose pulmonar, fazendo com que a tuberculose latente se torne ativa, desta forma, a função pulmonar se deteriora ainda mais. Sabe-se que sinais e sintomas de tuberculose ou até mesmo do vírus Influenza são similares, portanto, a coinfeção por COVID-19 com outros patógenos

dificulta as estratégias de diagnóstico, prevenção e controle da doença. Estes microrganismos em questão têm como alvo o trato respiratório humano, afetando principalmente os pulmões (SAHAH *et al.*, 2022).

2.2.2 Sintomatologia

A tuberculose afeta principalmente o sistema respiratório inferior e esses pacientes geralmente apresentam doença pulmonar. Os sinais e sintomas não se desenvolvem em todas as pessoas, apenas 5 a 10% dos indivíduos infectados. Os sintomas proeminentes da tuberculose são tosse produtiva crônica, hemoptise (tosse com sangue), perda de apetite, mal-estar, fadiga, perda de peso (WHO, 2017).

Esta doença também pode apresentar sintomas extrapulmonares, incluindo linfadenite, problemas renais, ósseo ou articular, meningite e doença disseminada. Os sintomas descritos da tuberculose extrapulmonar dependem do órgão afetado (GOLDEN; VIKRAM, 2005).

2.2.3 Diagnóstico

Inicialmente, a resposta ao bacilo se dá normalmente logo após o contágio. O patógeno possui ácido micólico na composição da sua superfície celular, por este motivo não é corada pelo método de coloração de Gram, ou seja, é álcool ácido resistente (BAAR). Para realizar a coloração utiliza-se o método de Ziehl Neelsen, que é utilizado no diagnóstico e acompanhamento da tuberculose e, apesar de ter boa especificidade, a sensibilidade é dependente do profissional que realiza (COSTA *et al.*, 2022).

A coloração de BAAR por este método tem sido imprescindível no diagnóstico da tuberculose, é uma técnica econômica, mas, além de depender de uma boa análise, a coleta da amostra deve ser bem fidedigna, pois, amostras inadequadas podem interferir no resultado. Por este motivo, recomenda-se coletar pelo menos duas amostras (GUTIERREZ, 2022).

Outro método diagnóstico é a cultura de micobactérias, porém o resultado não é imediato, podendo levar em torno de quatro a seis semanas, o que dificulta sua utilidade.

Sua maior importância é na identificação de bactérias tuberculosas e não tuberculosas que não são possíveis diferenciar através do microscópio (GUTIERREZ, 2022).

Mycobacterium tuberculosis é um bacilo aeróbio obrigatório, cresce de forma ideal a 37 °C (intervalo: 25-40 °C) e pH de 6,4 a 7,0. É um patógeno de crescimento lento com um tempo de geração de 14 a 15 horas e as colônias aparecem em cerca de 2 semanas, mas podendo demorar até 6 a 8 semanas. Em meios sólidos, a *M. tuberculosis* forma colônias secas, ásperas, elevadas e irregulares com uma superfície enrugada. Inicialmente as colônias são brancas, cremosas e depois tornam-se amareladas (FORBES *et al.*, 2000).

Dentre os exames diagnósticos, a radiografia de tórax (RX) é usada como auxílio para diferenciar entre tuberculose primária e tuberculose secundária. A doença primária geralmente caracteriza-se por uma única lesão no lobo médio ou inferior direito, com aumento dos gânglios linfáticos de drenagem (MCMURRAY, 2001).

Métodos moleculares são altamente sensíveis e específicos, o Gene Xpert MTB/RIF, é um ensaio baseado na amplificação utilizando PCR multiplex em tempo real, com 81 pares de bases, com gene específico para *M. tuberculosis* e mutações determinantes de resistência à rifampicina, o resultado pode levar apenas 90 minutos (LAWN; NICOL, 2011).

No ano de 2020, período de pandemia, a notificação de casos de tuberculose teve uma queda considerável (11,7%) em comparação com o ano de 2019. A redução se acentuou a partir do mês de agosto de 2020. Já em 2021 houve um aumento de 10% em relação a 2020 (Figura 4).

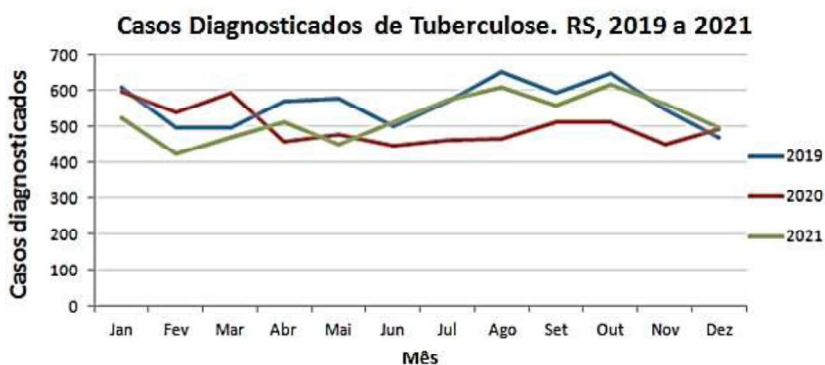


Figura 4: Casos diagnosticados de tuberculose, RS; 2019 a 2021. Fonte: SINAN/RS.

2.3 Influenza

Os vírus influenza são pertencentes à família *Orthomyxoviridae*, são envelopados com RNA de fita única e são classificados em quatro gêneros, influenza A, B, C e D. Destes, os que causam maiores preocupações para a saúde humana são o Influenza A e B. Influenza C são endêmicos, mas causam apenas doença leve em humanos, e o Influenza D causam infecções em bovinos principalmente. Influenza B infectam apenas humanos e são classificados em duas linhagens (B/Victoria e B/Yagamata), mas há poucos relatos de infecção por esta linhagem (HAUSE *et al.*, 2014).

O vírus influenza A é a causa da maioria das epidemias anuais e de doenças humanas pandêmicas ocasionais, seus subtipos H1N1 e H3N2 são classificados com base em duas glicoproteínas de superfície localizadas na membrana lipídica, a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA) (HOUSER; SUBBARAO, 2015). Desde o ano de 1889 foram registradas cinco pandemias por influenza A, destaca-se a mais grave em 1918 e a mais recente em 2009 (WEBSTER; GOVORKOVA, 2014).

Os sintomas causados pelo vírus influenza variam de uma doença respiratória leve, atingindo principalmente o trato respiratório superior, caracterizado por febre, dor de garganta, coriza, tosse, dor de cabeça, dores musculares, fadiga e até mesmo pneumonia. Os sintomas podem ser agravados em casos de infecções bacterianas secundárias, além disso, o vírus pode levar a um gama de complicações respiratórias, podendo afetar alguns órgãos como o coração, sistema nervoso central, por exemplo (SELLERS *et al.*, 2017).

A infecção causada por vírus influenza produz um grande espectro de gravidade clínica da doença, uma vez que, varia desde a infecção assintomática até mesmo a morte. A memória imune adaptativa a partir da exposição prévia por infecção natural ou imunização pode prevenir a infecção ou limitar o desenvolvimento dos sintomas ou complicações mais graves. Crianças sem exposição prévia ao patógeno e que possuem seu sistema imunológico mais frágil estão em risco para o desenvolvimento da doença de forma mais abrupta (MUNOZ, 2003).

Em indivíduos infectados, interações entre fatores virais e do hospedeiro influenciam o local em que ocorrerá a replicação e consequentemente na resposta

imunológica e determinam a gravidade da doença. Nem sempre infecções causadas por esses patógenos são atendidas clinicamente devido à variabilidade nas manifestações dos sintomas (CARRAT *et al.*, 2008).

Existem vários métodos diagnósticos dentre eles, ensaio imunoenzimático (ELISA), teste de fixação de complemento (FC), imunodifusão dupla (DID), inibição da hemaglutinina (HI) e reação da cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). O RT-PCR é o método mais utilizado por possuir uma confiabilidade maior (BOSE *et al.*, 2009).

2.4 Vírus Sincicial Respiratório

O vírus sincicial respiratório (VSR) foi descoberto há muitos anos, e desde então tem sido relatado que este patógeno causa infecções agudas no trato respiratório principalmente em lactentes, há uma falta de conhecimento sobre a infecção em idosos comparado com casos em crianças (HALL, 2001). O VSR humano dos tipos A e B são do gênero *Orthopneumovirus*, família *Pneumoviridae*, ordem *Mononegavirales*. Sua estrutura é esférica e envelopada (GOWER *et al.*, 2005).

As infecções por VSR em adultos geralmente não são primárias e são mais leves e moderadas em relação a gravidade, a menos que o indivíduo infectado tenha comorbidades, como, doença pulmonar crônica subjacente, ser imunocomprometido ou possuir fragilidade no sistema imunológico. A maioria das hospitalizações por VSR são lactentes e crianças pequenas (HALL, 2001). Uma das razões para que crianças estejam em maior risco de infecção é a alta relação superfície-volume das vias aéreas em desenvolvimento (HISLOP, 2002), por exemplo, o lúmen dos bronquíolos na via aérea é relativamente menor o de um adultos, sendo mais propenso à obstrução (OSTADABBAS *et al.*, 2014). Testes sorológicos não são muito utilizados para o diagnóstico deste vírus, o método mais utilizado para a detecção é o RT-PCR (FEIKIN *et al.*, 2013)

2.5 Coinfecções

A síndrome respiratória aguda grave (SRAG) é um agravamento dos sintomas da síndrome gripal (SG), que são febre, tosse, dor de garganta, dor de cabeça ou no corpo.

O indivíduo também pode apresentar dispneia ou, até mesmo, desconforto respiratório. Tanto a SRAG quanto a SG, podem ser causadas por diversos microrganismos respiratórios. Os mais comuns são os vírus Influenza A (subtipo H1N1 e H3N2) e B e o vírus sincicial respiratório (VSR), sendo que o vírus mais recente entre os causadores de tais síndromes é o SARS-CoV-2 (CARVALHO *et al.*, 2021).

A porta de entrada desses vírus é a via respiratória. Geralmente o vírus sincicial respiratório causa lesões no epitélio que ficam restritas à laringe ou traqueia, podendo se ampliar para os bronquíolos. Assim, a disseminação viral pode afetar as vias aéreas inferiores e causar bronquiolite e pneumonia. As crianças, principalmente bebês, são as mais afetadas com essas doenças (TRABOULSI *et al.*, 2015).

Coinfecções bacterianas e virais são relatadas frequentemente em pacientes com COVID-19 e podem levar ao aumento das taxas de morbidade e mortalidade (SHARIFIPOUR *et al.*, 2020). Entre os indivíduos com COVID-19, a prevalência de coinfecções pode ser variada e suas proporções podem ser de até 50% entre os não sobreviventes (LAI *et al.*, 2020).

A coinfecção entre vários microrganismos e SARS-CoV-2 é um problema sério na pandemia de COVID-19. Um dos grandes fatores é o uso indiscriminado de medicamentos, como os antibióticos, que podem contribuir para o desenvolvimento de resistência bacteriana (MIRZAEI *et al.*, 2020). A coinfecção bacteriana é comum em doenças respiratórias, em casos de influenza grave, atingindo 20-30% dos pacientes e estando associada a maiores gastos com a saúde, maior gravidade da doença e maior risco de morte (LANGFORD *et al.*, 2020).

As imunidades inata e adaptativa podem ser prejudicadas devido a uma infecção viral prévia, incluindo casos de COVID-19. As bactérias podem utilizar essa condição imune temporariamente comprometida do hospedeiro e causar uma pneumonia secundária (GINSBURG, 2020).

Em pacientes infectados por vírus, a coinfecção primária ou pneumonia bacteriana secundária está entre 11 e 35%. Além da patogênese do SARS-CoV-2, a coinfecção bacteriana desempenha um papel importante dificultando diagnóstico, tratamento e prognóstico de COVID-19 (CHEN *et al.*, 2020).

3 Artigos

3.1 Artigo 1

Coinfecção bacteriana em indivíduos com Covid-19: revisão bibliográfica

Alice Prestes da Silva, Rodrigo Casquero Cunha

Artigo publicado na revista Brazilian Journal of Development

Coinfecção bacteriana em indivíduos com Covid-19: revisão bibliográfica

Bacterial coinfection in individuals with Covid-19: a literature review

DOI:10.34117/bjdv8n7-132

Recebimento dos originais: 23/05/2022

Aceitação para publicação: 30/06/2022

Alice Prestes da Silva

Mestranda Programa de Pós-Graduação de Microbiologia e Parasitologia pela
Universidade Federal de Pelotas

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Endereço: R. Gomes Carneiro, 1, Centro, Pelotas -RS, CEP: 96010-610

E-mail: alicenves@hotmail.com

Rodrigo Casquero Cunha

Doutor em Ciência Animal

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Endereço: R. Gomes Carneiro, 1, Centro, Pelotas -RS, CEP: 96010-610

E-mail: rodrigo.cunha@ufpel.com.br

RESUMO

Os primeiros casos de Coronavírus foram relatados em 2019, na China, devido a sua alta taxa de transmissão a infecção espalhou-se rapidamente para outros países. A falta de conhecimento no manejo clínico da doença, levou ao uso indiscriminado de antibióticos para o tratamento, resultando em coinfeções bacterianas. O objetivo da pesquisa foi investigar a influência da coinfeção bacteriana sobre o prognóstico de pacientes com COVID-19. A metodologia utilizada foi uma revisão integrativa da literatura realizada nas bases de dados do Medline (através do PUBMED).

Palavras-chave: coinfeção, microbiologia, COVID-19

ABSTRACT

The first cases of Coronavirus were reported in 2019 in China, due to its high transmission rate the infection spread rapidly to other countries. Lack of knowledge in clinical management of the disease, led to indiscriminate use of antibiotics for treatment, resulting in bacterial co-infections. The aim of the research was to investigate the influence of bacterial coinfection on the prognosis of patients with COVID-19. The methodology used was an integrative literature review conducted in Medline databases (through PUBMED).

Keywords: coinfection, microbiology, COVID-19.

1 INTRODUÇÃO

O coronavírus (SARS-CoV-2) é um vírus de RNA envelopado, que pode causar pneumonia grave com sintomas clínicos diferentes dos causados pelo SARS-CoV e MERS-CoV, sendo capaz de levar à Síndrome respiratória aguda grave (HUANG et al., 2020). A coinfeção entre vários microrganismos e SARS-CoV-2 é um problema sério na Pandemia de COVID-19, principalmente porque antibióticos têm sido frequentemente utilizados para tratar a doença e podem contribuir para os desenvolvimentos de bactérias resistentes (MIRZAEI et al., 2020). A coinfeção bacteriana é comum em doenças respiratórias, em casos de influenza grave, atinge 20-30% dos pacientes e está associada a maiores gastos com a saúde, maior gravidade da doença e maior risco de morte (LANGFORD et al., 2020).

Em Wuhan, na China, a taxa de coinfeção bacteriana atingiu 15% dos pacientes hospitalizados e foi mais incidente entre não sobreviventes que sobreviventes (50:1%) (HUGHES et al., 2020). Ademais, a coinfeção no COVID-19 pode aumentar nos centros de terapia intensiva em decorrência de bactérias resistentes a antibióticos nosocomiais (FATORRINI et al., 2020). Por isso, o presente estudo teve o objetivo de investigar a influência da coinfeção bacteriana sobre o prognóstico de pacientes com COVID-19.

2 METODOLOGIA

Essa revisão foi realizada nas bases de dados da Medline (através do PUBMED). Foram utilizadas como chaves de pesquisa, palavras-chave registradas no Medical Subject Heading (MESH), organizadas da seguinte forma: Bacterial “AND” Coinfection “AND” Covid-19, foi aplicado filtro para ano de publicação, a fim de selecionar apenas artigos dos anos 2020 e 2021.

Após selecionados os artigos foram filtrados de acordo com os descritores utilizados na pesquisa, os mesmos deveriam estar presentes no título ou no resumo dos artigos. Trabalhos que geraram discussão entre os pesquisadores foram discutidos quanto a inclusão, sob supervisão dos orientadores.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 247 artigos completos de acesso livre na base de dados PUBMED. Zhang et al. (2020) observaram uma taxa de coinfeção bacteriana de 7,7% em pacientes com Covid-19 em amostra com 221 participantes, Hughes et al. (2020) foi observada uma baixa taxa de coinfeção no início da doença (3,2%) durante a admissão hospitalar, evoluindo para 6,1% durante o acompanhamento, no estudo de Mahmoudi (2020) a presença de coinfeção foi de 12,46% em uma amostra de 340 pacientes.

Pacientes graves são mais propensos a desenvolver coinfeção bacteriana e ter complicações (ZHANG et al., 2020). Segundo GU et al. (2020), a Covid-19 interage com a microbiota afetando sua composição, em seu estudo, através de sequenciamento do gene V3-V4 do RNA ribossômico verificou-se redução significativa da diversidade de bactérias intestinais. Esse esgotamento da diversidade do microbioma intestinal prejudica a capacidade do sistema imunológico de criar resposta humoral contra vírus como o da gripe e o SARS-CoV-2 (MIRZAEI et al., 2020).

O SARS-CoV-2 pode danificar linfócitos, especialmente células B, T e NK, comprometendo o sistema imunológico, facilitando a coinfeção (WANG et al., 2020). A resposta imune adaptativa induzida em relação a infecção viral falha na reação contra a infecção bacteriana, isso pode explicar porque as infecções bacterianas ocorrem em momentos em que o vírus começa a ser erradicado dos pulmões de pacientes com COVID-19.

Entre pacientes infectados por vírus, a coinfeção primária ou pneumonia bacteriana secundária está entre 11 e 35%. Além da patogênese do SARS-CoV-2, a coinfeção bacteriana desempenha um papel importante dificultando diagnóstico, tratamento e prognóstico de COVID-19 e até mesmo elevando a mortalidade (CHEN et al., 2020).

4 CONCLUSÕES

A coinfeção bacteriana pode piorar o prognóstico de pacientes com COVID-19, aumentando a taxa de mortalidade, além disso o tratamento com antibióticos sem o diagnóstico adequado pode reduzir a diversidade da microbiota intestinal favorecendo o predomínio de bactérias patogênicas causando outras doenças. Ainda não existem procedimentos padronizados para o diagnóstico de coinfeção bacteriana no COVID-19, que pode surgir concomitantemente ou durante a fase de recuperação.

REFERÊNCIAS

HUGHES, S., TROISE, O., DONALDSON, H., MUGHAL, N., & MOORE, L. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(10), 1395–1399, 2020.

MAHMOUDI H. Bacterial co-infections and antibiotic resistance in patients with COVID-19. *GMS hygiene and infection control*. 15, Doc35, 2020.

CHEN, X., LIAO, B., CHENG, L., PENG, X., XU, X., LI, Y., HU, T., LI, J., ZHOU, X., & REN, B. The microbial coinfection in COVID-19. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(18), 7777–7785, 2020.

FATTORINI, L., CRETI, R., PALMA, C., PANTOSTI, A., Unit of Antibiotic Resistance and Special Pathogens, & Unit of Antibiotic Resistance and Special Pathogens of the Department of Infectious Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome. Bacterial coinfections in COVID-19: an underestimated adversary. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*, 56(3), 359–364, 2020.

MIRZAEI, R., GOODARZI, P., ASADI, M., SOLTANI, A., ALJANABI, H., JEDA, A. S., DASHTBIN, S., JALALIFAR, S., MOHAMMADZADEH, R., TEIMOORI, A., TARI, K., SALARI, M., GHIASVAND, S., KAZEMI, S., YOUSEFIMASHOUF, R., KEYVANI, H., & KARAMPOOR, S. Bacterial co-infections with SARS-CoV-2. *IUBMB life*, 72(10), 2097–2111, 2020.

LANGFORD, B. J., SO, M., RAYBARDHAN, S., LEUNG, V., WESTWOOD, D., MACFADDEN, D. R., SOUCY, J. R., & DANEMAN, N. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(12), 1622–1629, 2020.

HUANG, C., WANG, Y., LI, X., REN, L., ZHAO, J., HU, Y., & CAO, B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The lancet*, 395(10223), 497-506. 2020.

ZHANG, G., HU, C., LUO, L., FANG, F., CHEN, Y., LI, J., PENG, Z., & PAN, H. Clinical features and short-term outcomes of 221 patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 127, 104364. 2020.

GU, S.; CHEN, Y.; WU, Z.; CHEN, Y.; GAO, H.; LV, L.; GUO, F.; ZHANG, X.; LUO, R.; HUANG, C.; LU, H.; ZHENG, B.; ZHANG, J.; YAN, R.; ZHANG, H.; JIANG, H.; XU, Q.; GUO, J.; GONG, Y.; TANG, L.; LI, L. Alterations of the Gut Microbiota in Patients with Coronavirus Disease 2019 or H1N1 Influenza. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 71(10), 2669–2678. 2020.

WANG M, LUO L, BU H, XIA H. Case report: one case of coronavirus disease 2019(COVID-19) in patient co-nfected by HIV with a low CD4+ T cell count. *Int J Infect Dis*. 2020;96:148–150. doi: 10.1016/j.ijid.2020.04.060

3.2 Artigo 2

Evaluation of coinfection in individuals positives for COVID-19 in southern Brazil

Alice Prestes da Silva; Déborah Carvalho da Costa Teles; Diago Dutra Lima; Fábio Pereira Leivas Leite; Kauê Rodriguez Martins; Rodrigo Casquero Cunha

Artigo submetido à revista Brazilian Archives of Biology and Technology

Article

EVALUATION OF COINFECTION IN INDIVIDUALS POSITIVES FOR COVID-19 IN SOUTHERN BRAZIL

ALICE PRESTES DA SILVA¹;
<https://orcid.org/0009-0006-6395-4735>

FÁBIO PEREIRA LEIVAS LEITE³;
<https://orcid.org/0000-0003-0941-7286>

DÉBORAH CARVALHO DA COSTA TELES²;
<https://orcid.org/0009-0007-3489-8487>

KAUE RODRIGUEZ MARTINS¹;
<https://orcid.org/0000-0002-2920-3456>

DIAGO DUTRA LIMA¹;
<https://orcid.org/0000-0001-9831-4582>

RODRIGO CASQUERO CUNHA^{1*}
<https://orcid.org/0000-0003-0145-0321>

¹ Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-graduação em Microbiologia e Parasitologia, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil; ² M&S Análises Clínicas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil; ³ Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

Editor-in-Chief: (Filled in by the admin.)

Associate Editor: (Filled in by the admin.)

Received: DD-MM-YYYY; Accepted: DD-MM-YYYY. (Filled in by the admin.)

*Correspondence: rodrigo.cunha@ufpel.edu.br; Tel.: +55 53 3275-7660

HIGHLIGHTS

- The present study aimed to investigate the co-infection among the pathogens SARS-CoV-2, M. tuberculosis, influenza A and B, and VSR, being the first of its kind in the state of Rio Grande do Sul.
- 800 samples were analyzed using RT-qPCR molecular method.
- In the study, 800 samples were analyzed, and no evidence of co-infection was found in the tested samples.

Abstract:

COVID-19, a disease caused by the SARS-CoV-2 virus that can progress to severe acute respiratory syndrome (SARS), was first reported in December 2019 in Wuhan, China. The virus spread rapidly, causing a pandemic. Due to the lack of adequate clinical management of the disease, several coinfections by bacterial, fungal, and viral pathogens have been reported, among them tuberculosis and influenza viruses, infectious diseases, and public health emergencies. Its symptoms are similar to those of COVID-19, and it presents a major risk factor for infected individuals. The objective of this research is to detect *Mycobacterium tuberculosis*, influenza virus, and respiratory syncytial virus in COVID-19-positive samples using the real-time PCR molecular method. The analyses will be carried out on samples of COVID-19-positive patients already

collected by the M&S Analyses Clinical Laboratory and processed at the Federal University of Pelotas.

Keywords: Coinfection, microbiology, COVID-19

INTRODUCTION

SARS-CoV-2 is a single-stranded Betacoronavirus belonging to the family Coronaviridae, which is included in the Sarbecovirus subgenus (lineage B of the β -CoV genus). The virion has a pleomorphic shape, with a spherical resemblance, and is characterized by an outer "crown" with spike protein peaks. Its genome encodes 16 non-structural proteins (nsp 1-16), including the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp, nsp12), and the helicase (nsp13). It also possesses 4 structural proteins, namely the spike protein (S), the membrane protein (M), and the nucleocapsid (N) and envelope (E) glycoproteins [1].

The virus is transmitted through inhalation or direct contact with infected droplets, and the incubation period ranges from 1 to 14 days. It is also known that even asymptomatic individuals can transmit the virus [2]. The most common symptoms are fever, dry cough, dyspnea, myalgia, and fatigue. Severe cases usually present signs and symptoms of viral pneumonia and can progress to severe acute respiratory syndrome (SARS) [2].

SARS is a worsening of the symptoms of influenza-like illness (ILI), which include fever, cough, sore throat, headache, or body aches. The individual may also experience dyspnea or even respiratory distress. Both SARS and ILI can be caused by various respiratory microorganisms, with the most common being influenza A viruses (subtypes H1N1 and H3N2) and B viruses, as well as respiratory syncytial virus (RSV). The most recent virus causing these syndromes is SARS-CoV-2 [3].

The symptoms of COVID-19 are very similar to those caused by the Influenza virus, which belongs to the Orthomyxoviridae family. Influenza is an enveloped virus with a single-stranded RNA. Its envelope originates from the outer layer of the plasma membranes of infected host cells. It was first isolated in humans in 1933 [4].

Influenza viruses are divided into four groups, and among them, groups A and B have a greater capacity for mutation and transmission. They enter the body through the mucous membranes of the respiratory tract and spread through the bloodstream, capable of attacking cells [4]. RSV is part of the pneumovirus genus, and there are two antigenically distinct strains in humans, subgroups A and B. Pneumoviruses have a glycoprotein on the surface of their cell called the G protein, which depends on the activity of hemagglutinin and neuraminidase [5]. The respiratory tract is the entry point for these viruses, and the epithelial lesions are usually restricted to the larynx or trachea but can extend to the bronchioles. Thus, viral dissemination can also affect the lower airways and cause bronchiolitis and pneumonia. Children, especially infants, are most affected by these diseases [6].

Respiratory syncytial virus (RSV) infection has caused significant rates of hospitalizations and mortality, especially in children, and one possible factor is the lack of vaccination against the pathogen [7]. Measures such as individual protection and isolation have helped reduce the incidence of this virus [8].

Influenza is an infectious respiratory disease caused by influenza A and influenza B viruses in humans, which can cause mild symptoms and worsen. They are characterized by annual seasonal epidemics but can also cause sporadic and unpredictable global pandemic outbreaks. Pandemic influenza is characterized by the introduction of a new strain of influenza A virus that is antigenically very different from previously circulating strains. The absence of pre-existing immunity in humans is often associated with the severity of the infection and increased mortality [9].

It has been reported that SARS-CoV-2 contagion can occur before or after *M. tuberculosis* and influenza virus infection, and patients with co-infection require longer hospitalization time, also generating a burden on the public health system [10].

So far, we have not found reports of studies investigating co-infection between these agents in the southern region of RS. Therefore, based on the presented information, the objective of this research was to screen for *M. tuberculosis*, influenza virus, and RSV in COVID-19 positive samples through molecular diagnosis.

MATERIAL AND METHODS

Sample Collection

A total of 800 samples were obtained from COVID-19 positive patients collected at a clinical laboratory located in the city of Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil from April 2022 to March of the year 2023. This laboratory provides services to municipalities within the 3rd Regional Health Coordination, located in the southernmost region of RS, Brazil. The selected samples were from residents of this region, of both sexes, with no defined age range. As an inclusion criterion, only samples that underwent respiratory panel analysis (influenza A and B, RSV, and SARS-CoV-2) using real-time RT-PCR method were selected, the samples positive for SARS-CoV-2 were selected.

Sample Processing

The samples were all elutions from oropharyngeal swabs and were frozen at -80 °C in endonuclease-free 2 mL microtubes. The elutions were thawed on ice and divided into 20 µL aliquots in 0.2 mL microtubes. In each aliquot, an additional 20 µL of Easy ExtractTM commercial reagent, which allows simultaneous extraction of DNA and RNA, was added. The microtube was incubated at 95 °C for 5 minutes and then placed on ice. After the extraction process, the material was immediately subjected to molecular diagnostic techniques.

For the detection of influenza A and B and RSV, the Multitarget Detection Assay for Respiratory Viruses: SARS-CoV-2, Flu A, Flu B, RSV A/B kit (Biomers, Schwalbach, Germany) was used along with the GoTaq[®] Probe 1-Step RT-qPCR System kit (A6121, Promega, WI, USA) in 20 µL reactions. The reaction consisted of 10 µL of GoTaq Probe qPCR Master mix with dUTP (1X), 0.4 µL of GoScript RT Mix for 1 Step RT-qPCR (1X), 1 µL of each primer and probe set, 3 µL of RNA, and endonuclease-free water q.s.p., totaling 20 µL. The amplification was performed using a CFX96 Touch System thermocycler (Bio-Rad, CA, USA). The thermocycling conditions were as follows: reverse transcription for 15 minutes at 45 °C, reverse transcriptase inactivation and DNA polymerase activation for 2 minutes at 95 °C, and 40 cycles of denaturation for 15 seconds at 95 °C and annealing and extension for 1 minute at 60 °C.

For the detection of DNA from *Mycobacterium* spp. of the *M. tuberculosis* complex, PCR was performed according to Wilton & Cousins (1992) on COVID-19 positive samples. The reaction consisted of buffer (2.5 µL), 1.5 µL of dNTP (2.5 mM), 1.25 µL of 50 mM MgCl₂, 0.5 µL of each primer at 10 pmol (MYCGEN-F: 5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3' and MYCGEN-R 5'-TGCACACAGGCCACAAGGGA-3'), 0.25 µL of Taq Polymerase (5U/µL) (Ludwig Biotecnologia, Porto Alegre, Brazil), 2 µL of DNA, and 16.5 µL of DNase- and RNase-free water, totaling 25 µL. A 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, MA, USA) was used. The thermocycling conditions were 94 °C for 2 minutes, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 30 seconds, annealing at 62 °C for 3 minutes, extension at 72 °C for 3 minutes, and a final extension at 72 °C for 7 minutes. A sample of *M. tuberculosis* DNA was used as a positive control in the reactions. As a negative control, 2 µL of endonuclease-free water was used. For visualization and interpretation of the results from the 800 samples, including positive and negative controls and a marker (100 bp ladder, Ludwig Biotecnologia, RS, Brazil), agarose gel electrophoresis at 1.5% stained with ethidium bromide at 0.5 µg/mL was performed.

RESULTS AND DISCUSSION

The present study aimed to investigate the co-infection among the pathogens SARS-CoV-2, *M. tuberculosis*, influenza A and B, and VSR, being the first of its kind in the state of Rio Grande do Sul. In the study, 800 samples were analyzed, and no evidence of co-infection was found in the tested samples.

The SARS-CoV-2 virus damages various organs, and it is possible that host cellular factors contribute to the replication and transmission of the pathogen in vivo. Hypothetically, several receptors allow the virus to enter the cytoplasm of the host cell. For example, the polysaccharide heparan sulfate, expressed on the surface of host cells, binds to the spike protein (S protein) of SARS-CoV-2. Using the same mechanism, both the influenza virus and SARS-CoV-2 can utilize this polysaccharide to attach to the host cell surface and increase viral interactions with other cellular receptors [11].

On the other hand, *M. tuberculosis* also invades and replicates in pneumocytes and alveolar macrophages using receptors. Thus, alveolar macrophages phagocytize the pathogen before it is transferred to lysosomes and subsequently destroyed. A successful infection caused by this pathogen depends on its encounter with host cell factors, specifically alveolar macrophages [12].

According to SAHAH et al., COVID-19 worsens the condition of pulmonary tuberculosis, causing latent tuberculosis to become active and further deteriorating lung function. It is known that signs and symptoms of tuberculosis, influenza, and VSR are similar, therefore, co-infection of COVID-19 with other pathogens hinders disease diagnosis, prevention, and control strategies. These microorganisms in question target the human respiratory tract, mainly affecting the lungs. According to evidence, patients with COVID-19 co-infected with tuberculosis have a higher risk of death [13].

In a pioneering study, the biological effects of the interaction between COVID-19 and tuberculosis were investigated, evaluating a specific immune response to SARS-CoV-2 and *M. tuberculosis* using a whole-blood assay platform. The data demonstrated that tuberculosis significantly reduces the specific response to SARS-CoV-2 in co-infected patients. The immune response in tuberculosis typically involves T cells, mainly the CD4 lymphocyte compartment, whereas COVID-19 is characterized by lymphopenia, which is considered a marker of disease severity, and immunosuppressive medications can be used to treat patients with COVID-19 [14].

Despite these assumptions, the study showed that patients with COVID-19 or tuberculosis retain the ability to respond to specific antigens of *M. tuberculosis*. In contrast, co-infected patients with tuberculosis and COVID-19 have a low chance of mounting an immune response to SARS-CoV-2. Interestingly, the evaluated patients presented lower lymphocyte counts compared to the other two evaluated groups. The reduced or absent response to SARS-CoV-2 antigens in the whole blood of co-infected patients may be a consequence of massive compartmentalization of specific T cell populations in infectious foci. In other words, it was demonstrated that tuberculosis impairs the ability to mount a specific immune response to SARS-CoV-2 in co-infected individuals. These findings, if confirmed in larger studies, will be useful in the evaluation of management and diagnosis in co-infection [14].

It is believed that innate immunity plays a crucial role in the severity of COVID-19. This has been postulated based on the high prevalence and mortality of individuals with the disease in countries with a low Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination rate. A review showed a potential correlation between BCG and cross-protection against COVID-19, with every 10% of vaccinated individuals resulting in a 10.4% reduction in COVID-19 mortality [15].

The diagnosis and management of COVID-19 have changed throughout the pandemic. Initially, due to limited availability of real-time RT-PCR and often delayed results, individuals were empirically considered positive for the disease based on the risk of exposure and history of contact with other people. Findings from tomography and X-rays were also used as a resource before real-time RT-PCR. Both COVID-19 and tuberculosis have a high infection rate, with a single

individual being able to infect 2.5 people within a short period of 5 days, and an individual with pulmonary tuberculosis can infect about 15 people per year [15].

The gold standard examination for diagnosing tuberculosis is acid-fast bacilli (AFB) smear microscopy, which allows for the detection of alcohol-acid-resistant bacilli (AARB). Slides are prepared from sputum samples, usually requesting three samples for a more reliable result, and these slides are stained using standard methods such as Ziehl-Neelsen or Kinyoun. Additionally, chest computed tomography can simultaneously diagnose previously undiagnosed COVID-19 and tuberculosis [16]. Another option is the cartridge-based nucleic acid amplification test, GeneXpert MTB/RIF [17].

Laboratory findings are extremely important in investigating co-infection, including reduced CD4 T cells, high viral load, lymphopenia, decreased platelets and hemoglobin, elevated C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, D-dimer, and hyperferritinemia. The gold standard for COVID-19 is real-time RT-PCR. It is important to note that the most frequent imaging findings in individuals infected with these pathogens are left apical infiltrate, irregular peri-hilar opacities, cavitations, pleural empyema, ground-glass opacities and nodular opacities [16].

In the state of Rio Grande do Sul (RS), the incidence of tuberculosis in 2011 was 46.1 cases per 100,000 inhabitants, ranking 5th nationally. Fifteen municipalities were considered priorities for disease control, including the city of Pelotas, which reported a rate of 46.6 cases per 100,000 inhabitants in 2008 [18]. There is still no clear research confirming the evidence of synergism among the pathogens SARS-CoV-2, *M. tuberculosis*, influenza A and B, and VSR. However, further investigation is necessary to understand the impact, synergism, and pathogenesis of co-infection among them [13]. The evident concern is that the diagnosis of tuberculosis, influenza, and VSR has decreased as a consequence of the COVID-19 pandemic, contributing to increased incidence and mortality [10].

As described earlier, the lack of accurate diagnosis contributed to the incidence and mortality because many patients diagnosed with COVID-19 were not tested for other pathogens. Considering that COVID-19 worsens the health status of individuals with comorbidities, co-infections worsen the prognosis. Once a correct diagnosis is made, the management of these patients can change. A study conducted with 49 patients showed that 53% of individuals who presented symptoms such as recurrent cough, fever, and shortness of breath were diagnosed with tuberculosis before COVID-19. Among them, 28.5% had COVID-19 first, and 18.3% were diagnosed with both diseases in the same week [19]. It is possible that many patients who had COVID-19 first may have already had latent tuberculosis, and the synergism between the pathogens may have triggered the activation of tuberculosis. The symptoms described above are also often attributed to common flu, and many individuals do not seek medical assistance.

In two cases, a 29-year-old man was admitted to the hospital with complaints of non-productive cough. Additionally, he had moderate exertional dyspnea, asthenia, adynamia, and a weight loss of about 30 kilograms in the last 5 months. A nasopharyngeal swab was analyzed using real-time RT-PCR, confirming an infection with SARS-CoV-2. During hospitalization, an outpatient analysis of sputum using the GeneXpert MTB/RIF assay resulted in a positive test for *M. tuberculosis* infection, without resistance to rifampicin. Additionally, confirmatory tests for sexually transmitted diseases detected HIV with a high viral load and low CD4 T-lymphocyte count [20]. In the second case, a 53-year-old man arrived at the same hospital with a history of tuberculosis and treatment with rifampicin, complaining of fever for the past 7 days, as well as dyspnea, asthenia, and adynamia. This report raised suspicion of COVID-19. A nasopharyngeal swab was analyzed using RT-PCR, confirming the infection with SARS-CoV-2. Similar to the previous case, the patient also tested positive for HIV. Both patients mentioned were discharged after 14 days of hospitalization [20].

These studies highlight the importance of clinical management with a correct diagnosis, where symptoms were observed and tests were performed for multiple pathogens, leading to the

discovery of even HIV, which does not have symptoms similar to COVID-19 and TB. A thorough patient history contributes to a positive clinical outcome.

SONG et al. [5] selected 6,919 articles in the literature in search of evidence of coinfection between tuberculosis and COVID-19 (of which only 36 were eligible for the study). They found 89 cases of COVID-19 and TB, where 88.76% developed active tuberculosis, 8.99% had previous tuberculosis, and 2.25% had latent tuberculosis. A total of 56.41% of individuals with coinfection had comorbidities such as hypertension, HIV, hepatitis, epilepsy, chronic kidney disease, cerebrovascular disease, chronic obstructive pulmonary disease, asthma, or cancer [5]. In these cases, a comparison was made between survivors and non-survivors. The patients who did not survive had higher complications such as hypertension, hepatitis, and cancer. Upon admission to the hospital, the ten most common symptoms presented were fever, cough, dyspnea, weight loss, fatigue, expectoration, chest pain, headache, myalgia, and vomiting. Dyspnea was more prevalent among non-survivors [5]. Theoretically, comorbidities worsen the prognosis and were more predominant among non-survivors, with dyspnea being an important factor.

As discussed earlier, other studies have shown that tuberculosis was diagnosed before COVID-19, with 16.5% of the patients studied being diagnosed in the same week with both diseases (signs and symptoms led doctors to suspect and perform imaging tests, which revealed potentially pre-existing tuberculosis in addition to COVID-19). However, 9.5% of patients had COVID-19 diagnosed first [21].

The interaction between COVID-19 and tuberculosis increases clinical complexity and consequently affects patient management, such as the need for oxygen supplementation, invasive or non-invasive ventilation, and specialized healthcare team demands, which significantly impact healthcare services. Since the symptoms of both diseases are similar, simultaneous screening is necessary, and it is important for healthcare systems to adopt molecular tests and imaging as diagnostic tools.

Individuals with active pulmonary TB are at higher risk of contracting COVID-19 due to changes in lung immunity, driven by the attenuated host response to interferon-gamma and the SARS-CoV-2 virus. In fact, reactivation of latent TB due to COVID-19 coinfection is plausible since the two pathogeneses mutually enhance with transient reduction of the cellular response. Therefore, the World Health Organization recommends that routine studies be conducted to investigate the status of tuberculosis infection in patients with COVID-19 [22].

In addition to coinfections with TB, the influenza virus is a pathogen that contributes to the cause of acute respiratory syndrome (ARDS). According to a study by EISEN et al. [23], samples from hospitalized patients were analyzed, and a low frequency of positive cases for influenza A and B was observed. Only 1.62% of the analyzed samples tested positive for this virus, even though the diagnosis of this pathogen is crucial during the fall/winter months, especially in the elderly. In comparison to 2019, approximately 17.8% of the 38,048 samples of ARDS were attributed to one of the influenza viruses throughout Brazil. A likely explanation for this is the vaccination status of the population [23].

In the case of the present study, personal patient records were not consulted due to ethical reasons, so the samples were not selected based on symptoms, sex, age, or comorbidities. The samples were selected solely based on a positive detection for SARS-CoV-2. Consequently, the analyzed samples possibly did not come from patients who were more predisposed to coinfections with influenza A and B, RSV, and *M. tuberculosis*.

According to the Epidemiological Report of Rio Grande do Sul [24], the state continues to have a high burden of TB and coinfections, especially with the HIV virus. The evaluation of epidemiological indicators is essential for controlling the severity of public health issues. In this regard, tools such as reports and studies on these pathogens are of utmost importance to aid in the processes of information, decision-making, and action.

Underreporting of cases is also a major concern. In 2020, when the COVID-19 pandemic began, seven Health Regions had mortality rates higher or close to the state average, as shown in Figure 1. [24]

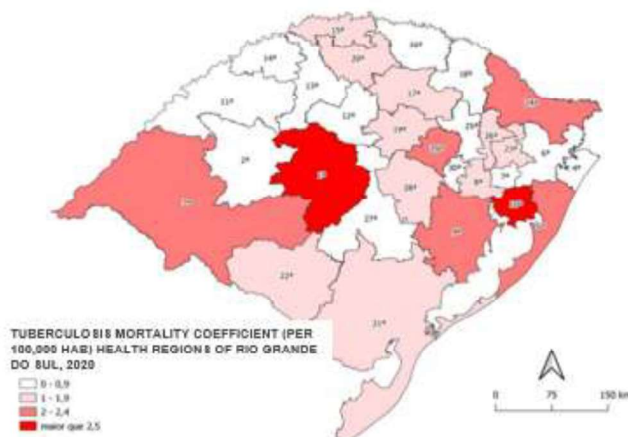


Figure 1: Tuberculosis Mortality Rate (per 100,000 inhabitants) in the Health Regions of Rio Grande do Sul, 2020. **Source:** SINAN NET/RS, 2020: accessed on 15/05/2022.

CONCLUSION

In this study, there were no samples detected with viral RNA from Respiratory syncytial virus (RSV), viral RNA from influenza virus, or *Mycobacterium tuberculosis* bacterial DNA. There was no coinfection in the analyzed samples.

Coinfections, whether bacterial or viral, can worsen the prognosis of patients with COVID-19. Effective clinical management relies on accurate diagnosis, which involves patient history taking and the correlation of clinical symptoms with imaging, laboratory, and molecular tests. In the present study, no evidence of coinfections among the tested pathogens was found. Based on a literature review, we concluded that, in addition to the sample selection criteria, one of the factors contributing to this result, in the case of coinfection with influenza A and B, may be vaccination. Since the beginning of the pandemic, the vaccination rate has increased.

It is evident that more studies are needed on coinfections, not only viral and bacterial but also fungal. Early and accurate diagnoses help in providing appropriate treatment for patients, resulting in fewer hospitalizations and a reduction in mortality rates.

Funding: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS.

Acknowledgments: To the M&S Análises Clínicas.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. A. Russo, C. Minichini, M. Starace, R. Astorri, F. Calò, and N. Coppola, *Infect Drug Resist* **13**, 2657 (2020).
2. Amélia Estevão, *Acta Radiológica Portuguesa* **32**, 5 (2020).
3. D. C. de Oliveira, B. B. Meneghelli, D. F. A. de Sousa, I. G. C. K. Severino, L. M. Baptista, L. S. Mario, P. J. M. Cardoso, E. R. dos Santos, I. C. Clementino, J. A. C. de Ávila, I. V. Martins, and I. B. de Oliveira, *Brazilian Journal of Health Review* **4**, 22655 (2021).
4. G. Fernanda and V. R. Medeiros Andrade, *REVISTA INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIAS DA SAÚDE E BIOLÓGICAS – RICSBS* **3**, 74 (2020).
5. W. M. Song, J. Y. Zhao, Q. Y. Zhang, S. Q. Liu, X. H. Zhu, Q. Q. An, T. T. Xu, S. J. Li, J. Y. Liu, N. N. Tao, Y. Liu, Y. F. Li, and H. C. Li, *Front Med (Lausanne)* **8**, (2021).
6. H. Traboulsi, A. Cloutier, K. Boyapelly, M. A. Bonin, É. Marsault, A. M. Cantin, and M. V. Richter, *Antimicrob Agents Chemother* **59**, 6317 (2015).
7. Valentina Coutinho Batoldo Gava Chakr., *Postgrad Med J* **98**, 7 (2022).
8. C. Achangwa, H. Park, S. Ryu, and M.-S. Lee, *Viruses* **14**, 1071 (2022).
9. S. A. Sellers, R. S. Hagan, F. G. Hayden, and W. A. Fischer, *Influenza Other Respir Viruses* **11**, 372 (2017).
10. A. G. R. Costa, C. E. R. Cavalcanti, I. M. L. Nunes, T. S. Pimenta, and M. do S. V. Pereira, *Research, Society and Development* **11**, e8111426758 (2022).
11. T. M. Clausen, D. R. Sandoval, C. B. Spliid, J. Pihl, H. R. Perrett, C. D. Painter, A. Narayanan, S. A. Majowicz, E. M. Kwong, R. N. McVicar, B. E. Thacker, C. A. Glass, Z. Yang, J. L. Torres, G. J. Golden, P. L. Bartels, R. N. Porell, A. F. Garretson, L. Laubach, J. Feldman, X. Yin, Y. Pu, B. M. Hauser, T. M. Caradonna, B. P. Kellman, C. Martino, P. L. S. M. Gordts, S. K. Chanda, A. G. Schmidt, K. Godula, S. L. Leibel, J. Jose, K. D. Corbett, A. B. Ward, A. F. Carlin, and J. D. Esko, *Cell* **183**, 1043 (2020).
12. J. S. Ferguson, J. J. Weis, J. L. Martin, and L. S. Schlesinger, *Infect Immun* **72**, 2564 (2004).
13. T. Shah, Z. Shah, N. Yasmeen, Z. Baloch, and X. Xia, *Front Immunol* **13**, (2022).
14. L. Petrone, E. Petruccioli, V. Vanini, G. Cuzzi, G. Gualano, P. Vittozzi, E. Nicastri, G. Maffongelli, A. Grifoni, A. Sette, G. Ippolito, G. B. Migliori, F. Palmieri, and D. Goletti, *International Journal of Infectious Diseases* **113**, S82 (2021).
15. A. K. Mishra, A. A. George, K. K. Sahu, A. Lal, and G. Abraham, *Acta Biomedica* **92**, (2021).
16. C. C. A. Amaral, D. da C. Silva, É. N. V. Soares, J. N. E. A. Maia, and F. da S. dos Santos, *Revista Eletrônica Acervo Saúde* **15**, e9373 (2022).
17. W. Samuel, N. R. Nhatsave, and N. E. Monjane, *RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar - ISSN 2675-6218* **3**, e311056 (2022).
18. L. M. de Lima, E. Schwartz, R. I. Cardozo Gonzáles, J. Harter, and J. F. de Lima, *Rev Gaucha Enferm* **34**, 102 (2013).
19. M. Tadolini, L. R. Codecasa, J. M. García-García, F. X. Blanc, S. Borisov, J. W. Alffenaar, C. Andréjak, P. Bachez, P. A. Bart, E. Belilovski, J. Cardoso-Landivar, R. Centis, L. D'Ambrosio, M. L. De Souza-Galvão, A. Dominguez-Castellano, S. Dourmane, M. F. Jachym, A. Froissart, V. Giacommet, D. Goletti, S. Grard, G. Gualano, A. Izadifar, D. Le Du, M. M. Royo, J. Mazza-Stalder, I. Motta, C. W. Min Ong, F. Palmieri, F. Rivière, T. Rodrigo, D. R. Silva, A. Sánchez-Montalvá, M. Saporiti, P. Scarpellini, F. Schlemmer, A. Spanevello, E. Sumarokova, E. Tabernero, P. A. Tambyah, S. Tiberi, A. Torre, D. Visca, M. Z. Murguiondo, G. Sotgiu, and G. B. Migliori, *European Respiratory Journal* **56**, (2020).

20. N. Rivas, M. Espinoza, A. Loban, O. Luque, J. Jurado, N. Henry-Hurtado, and A. Goodridge, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **103**, 1597 (2020).
21. G. B. Migliori, N. Casco, A. L. Jorge, D. J. Palmero, J. W. Alffenaar, J. Denholm, G. J. Fox, W. Ezz, J. G. Cho, A. Skrahina, V. Solodovnikova, P. Bachez, A. Piubello, M. A. Arbex, T. Alves, M. F. Rabahi, G. R. Pereira, R. Sales, D. R. Silva, M. M. Saffie, R. C. Miranda, V. Cancino, M. Carbonell, C. Cisterna, C. Concha, A. Cruz, N. E. Salinas, M. E. Revillot, J. F. Valdés, I. Fernandez, X. Flores, P. G. Tapia, A. Garavagno, C. G. Vera, M. H. Bahamondes, L. M. Merino, E. Muñoz, C. Muñoz, I. Navarro, J. N. Subiabre, C. Ortega, S. Palma, A. M. Pradenas, G. Pereira, P. P. Castillo, M. Pinto, R. Pizarro, F. R. Bidegain, P. Rodriguez, C. Sánchez, A. S. Salinas, A. Soto, C. Taiba, M. Venegas, M. S. V. Riquelme, E. Vilca, C. Villalón, E. Yucra, Y. Li, A. Cruz, B. Guelvez, R. V. Plaza, K. Y. T. Hoyos, C. Andréjak, F. X. Blanc, S. Dourmane, A. Froissart, A. Izadifar, F. Rivière, F. Schlemmer, K. Manika, B. D. Diallo, S. Hassane-Harouna, N. Artilles, L. A. Mejia, N. Gupta, P. Ish, G. Mishra, S. Sharma, R. Singla, Z. F. Udwadia, F. Alladio, F. Angeli, A. Calcagno, R. Centis, L. R. Codecasa, L. D'Ambrosio, A. De Lauretis, S. Esposito, B. Formenti, A. Gaviraghi, V. Giacomet, D. Goletti, G. Gualano, A. Matteelli, I. Motta, F. Palmieri, E. Pontali, T. Prestileo, N. Riccardi, L. Saderi, M. Saporiti, G. Sotgiu, C. Stochino, M. Tadolini, A. Torre, S. Villa, D. Visca, E. Danila, S. Diktanas, R. L. Ridaura, F. L. L. López, M. M. Torrico, A. Rendon, O. W. Akkerman, M. B. Souleymane, S. Al-Abri, F. Alyaquobi, K. Althohli, E. Aizpurua, R. Gonzales, J. Jurado, A. Loban, S. Aguirre, R. C. Teixeira, V. De Egea, S. Irala, A. Medina, G. Sequera, N. Sosa, F. Vázquez, F. K. Llanos-Tejada, S. Manga, R. Villanueva-Villegas, D. Araujo, R. Duarte, T. S. Marques, V. I. Grecu, A. Socaci, O. Barkanova, M. Bogorodskaya, S. Borisov, A. Mariandyshev, A. Kaluzhenina, T. A. Vukicevic, M. Stosic, D. Beh, D. Ng, C. W. M. Ong, I. Solovic, K. Dheda, P. Gina, J. A. Caminero, J. Cardoso-Landivar, M. L. De Souza Galvão, A. Dominguez-Castellano, J. M. García-García, I. M. Pinargote, S. Q. Fernandez, A. Sánchez-Montalvá, E. T. Huguet, M. Z. Murguiondo, P. A. Bart, J. Mazza-Stalder, F. Bakko, J. Barnacle, A. Brown, S. Chandran, K. Killington, K. Man, P. Papineni, S. Tiberi, N. Utjesanovic, D. Zenner, J. L. Hearn, S. Heysell, and L. Young, *European Respiratory Journal* **59**, (2022).
22. L. E. Nyanti, Z. H. Wong, B. Sachdev Manjit Singh, A. K. W. Chang, A. T. Jobli, and H. H. Chua, *Respir Med Case Rep* **37**, (2022).
23. A. K. A. Eisen, J. S. Gularte, M. Demoliner, V. M. de Abreu Goés Pereira, F. H. Heldt, M. Filippi, P. R. de Almeida, A. W. Hansen, J. D. Fleck, and F. R. Spilki, *J Med Virol* **93**, 4392 (2021).
24. A. Gilda Hubner Bergmann -Secretária, C. Goulart Molina Bastos -Diretora, P. Stehmann Nunes, L. Wasem Fagundes -Diretora, C. Adriane Jarczewski -Diretora Técnica, and C. Adriane Jarczewski -Coordenadora, *Secretaria de Estado Da Saúde Do Rio Grande Do Sul* (n.d.).

6 Conclusões Gerais

- O presente estudo não encontrou presença de RNA viral e DNA dos patógenos nas amostras analisadas, contudo, não significa que não há coinfeção na cidade de Pelotas, RS.
- É importante que sejam realizados mais estudos referentes ao assunto, visto que, diagnósticos corretos melhoram o prognóstico dos indivíduos infectados, principalmente aqueles que requerem internação hospitalar.
- Ressalta-se a importância da realização de mais estudos com maior número de amostragem.
- Conclui-se que mesmo acerca do resultado do estudo, não significa que a cidade de Pelotas-RS não possua casos de coinfeção.

Referências

ACHANGWA, Chiara *et al.* Collateral impact of public health and social measures on respiratory virus activity during the COVID-19 pandemic 2020–2021. **Viruses**, v. 14, n. 5, p. 1071, 2022.

AL LAWATI, Redha *et al.* COVID-19 and pulmonary mycobacterium tuberculosis coinfection. **Oman Medical Journal**, v. 36, n. 5, p. e298, 2021.

ALOSAIMI, Bandar *et al.* Influenza co-infection associated with severity and mortality in COVID-19 patients. **Virology Journal**, v. 18, n. 1, p. 1-9, 2021.

BARRA, Gustavo Barcelos *et al.* Analytical sensitivity and specificity of two RT-qPCR protocols for SARS-CoV-2 detection performed in an automated workflow. **Genes**, v. 11, n. 10, p. 1183, 2020.

BOSE, Michael E. *et al.* Rapid semiautomated subtyping of influenza virus species during the 2009 swine origin influenza A H1N1 virus epidemic in Milwaukee, Wisconsin. **Journal of clinical microbiology**, v. 47, n. 9, p. 2779-2786, 2009.

CARVALHO, Adriana Dourado *et al.* PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS CASOS E ÓBITOS POR SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE CONFIRMADOS PARA COVID-19. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 45, n.1, p. 19-32, 2021.

CHOUDHRY, Namrta *et al.* Chinese therapeutic strategy for fighting COVID-19 and potential small-molecule inhibitors against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, n. 22, p. 13205-13227, 2020.

CHEN, Xi *et al.* The microbial coinfection in COVID-19. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, p. 7777-7785, 2020.

COSTA, Arthur Galvão Rodrigues *et al.* Análise geral do *Mycobacterium tuberculosis* e sua repercussão na pandemia da Covid-19: Uma Revisão Bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e8111426758-e8111426758, 2022.

CARRAT, Fabrice *et al.* Time lines of infection and disease in human influenza: a review of volunteer challenge studies. **American journal of epidemiology**, v. 167, n. 7, p. 775-785, 2008.

CUI, Jie; LI, Fang; SHI, Zheng-Li. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature reviews microbiology**, v. 17, n. 3, p. 181-192, 2019.

CORTESE, Mirko *et al.* Integrative imaging reveals SARS-CoV-2-induced reshaping of subcellular morphologies. **Cell host & microbe**, v. 28, n. 6, p. 853-866. e5, 2020.

COUTINHO, Valentina Batoldo Gava Chakr. Which should we fear more in preschoolers and infants: SARS-CoV-2 or respiratory syncytial virus? **Postgraduate Medical Journal**, v. 98, n. 1161, p. e7-e7, 2022.

CROTTI, G. P. *et al.* A relação entre tuberculose pulmonar e COVID-19: uma revisão bibliográfica. **IX Congresso Médico Universitário São Camilo**, 2021.

DANNENBERG JR, Arthur M.; ROOK, Graham AW. Pathogenesis of pulmonary tuberculosis: an interplay of tissue-damaging and macrophage-activating immune responses—dual mechanisms that control bacillary multiplication. **Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control**, p. 459-483, 1994.

DE OLIVEIRA, Marcone AL *et al.* Testes diagnósticos para o SARS-COV-2: Uma reflexão crítica. **Química Nova**, v. 45, p. 760-766, 2022.

ESTEVÃO, Amélia. COVID-19. **Acta Radiológica Portuguesa**, v. 32, n. 1, p. 5-6, 2020.

FENTON, Matthew J.; VERMEULEN, Mary W. Immunopathology of tuberculosis: roles of macrophages and monocytes. **Infection and immunity**, v. 64, n. 3, p. 683-690, 1996.

FEIKIN, Daniel R. *et al.* Additional diagnostic yield of adding serology to PCR in diagnosing viral acute respiratory infections in Kenyan patients 5 years of age and older. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 20, n. 1, p. 113-114, 2013.

FERGUSON, J. Scott *et al.* Complement protein C3 binding to Mycobacterium tuberculosis is initiated by the classical pathway in human bronchoalveolar lavage fluid. **Infection and immunity**, v. 72, n. 5, p. 2564-2573, 2004.

FORBES, Betty A.; SAHM, Daniel F.; WEISSFELD, Alice S. Study Guide for Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology-E-Book. **Elsevier Health Sciences**, 2016.

FUKUMOTO, Tatsuya *et al.* Efficacy of a novel SARS-CoV-2 detection kit without RNA extraction and purification. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 98, p. 16-17, 2020.

GALLIVAN, Mark; SHAH, Neha; FLOOD, Jennifer. Epidemiology of human *Mycobacterium bovis* disease, California, USA, 2003–2011. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 3, p. 435, 2015.

GINSBURG, Amy Sarah; KLUGMAN, Keith P. COVID-19 pneumonia and the appropriate use of antibiotics. **The Lancet Global Health**, v. 8, n. 12, p. e1453-e1454, 2020.

GOUDOURIS, Ekaterini S. Laboratory diagnosis of COVID-19. **Jornal de Pediatria**, v. 97, n. 1, p. 7–12, 2021.

GOLDEN, Marjorie P.; VIKRAM, Holenarasipur R. Extrapulmonary tuberculosis: an overview. **American family physician**, v. 72, n. 9, p. 1761-1768, 2005.

GOMAR, Gabriella Giandotti; VAZ, Rogerio Saad; MAKUCH, Débora Maria Vargas. COINFECÇÃO DE COVID-19 COM TUBERCULOSE PULMONAR: UMA REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, p. 1-8, 2022.

GOWER, Tara L. *et al.* RhoA signaling is required for respiratory syncytial virus-induced syncytium formation and filamentous virion morphology. **Journal of virology**, v. 79, n. 9, p. 5326-5336, 2005.

GUO, Yan-Rong *et al.* The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. **Military medical research**, v. 7, p. 1-10, 2020.

GU, Jiang; KORTEWEG, Christine. Pathology and pathogenesis of severe acute respiratory syndrome. **The American journal of pathology**, v. 170, n. 4, p. 1136-1147, 2007.

GUTIÉRREZ, María Belen Arriaga. **Determinantes clínicos e epidemiológicos da susceptibilidade à infecção pelo mycobacterium tuberculosis e da resposta terapêutica em pacientes com tuberculose**. 2022. Tese de Doutorado.

HALL, Caroline Breese. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. **New England journal of medicine**, v. 344, n. 25, p. 1917-1928, 2001.

HAUSE, Ben M. *et al.* Characterization of a novel influenza virus in cattle and Swine: proposal for a new genus in the Orthomyxoviridae family. **MBio**, v. 5, n. 2, p. e00031-14, 2014.

HISLOP, Alison A. Airway and blood vessel interaction during lung development. **Journal of anatomy**, v. 201, n. 4, p. 325-334, 2002.

HOUSER, Katherine; SUBBARAO, Kanta. Influenza vaccines: challenges and solutions. **Cell host & microbe**, v. 17, n. 3, p. 295-300, 2015.

HENRY, Brandon Michael *et al.* Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 58, n. 7, p. 1021-1028, 2020.

KITAGAWA, Yutaro *et al.* Evaluation of rapid diagnosis of novel coronavirus disease (COVID-19) using loop-mediated isothermal amplification. **Journal of Clinical Virology**, v. 129, p. 104446, 2020.

KOCZULA MK, GALLOTA A. Lateral flow immunoassay. **Essays Biochem**, 60(1), 111-120, 2016.

LAI, Chih-Cheng; WANG, Cheng-Yi; HSUEH, Po-Ren. Co-infections among patients with COVID-19: The need for combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents?. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 53, n. 4, p. 505-512, 2020.

LANGFORD, B. J *et al.* Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. *Clinical microbiology and infection: the official publication of The European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(12), 1622–1629, 2020.

LAWN, Stephen D.; NICOL, Mark P. Xpert® MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. **Future microbiology**, v. 6, n. 9, p. 1067-1082, 2011.

LIMA, Lílían Moura de *et al.* O programa de controle da tuberculose em Pelotas/RS, Brasil: investigação de contatos intradomiciliares. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 34, p. 102-110, 2013.

LIU, Yingxia *et al.* Elevated plasma levels of selective cytokines in COVID-19 patients reflect viral load and lung injury. **National Science Review**, v. 7, n. 6, p. 1003-1011, 2020.

MIRZAEI, Rasoul *et al.* Bacterial co-infections with SARS-CoV-2. **IUBMB life**, v. 72, n. 10, p. 2097-2111, 2020.

MURALIDAR, Shibi. The emergence of COVID-19 as a global pandemic: understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. **Biochimie**, 179:85–100, 2020.

MUNOZ, Flor M. Influenza virus infection in infancy and early childhood. **Paediatric respiratory reviews**, v. 4, n. 2, p. 99-104, 2003.

MCMURRAY, David N. Disease model: pulmonary tuberculosis. **Trends in molecular medicine**, v. 7, n. 3, p. 135-137, 2001.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Pandemia da doença do coronavírus (COVID-19). Genebra: **Organização Mundial da Saúde**; 2019. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Acessado em: 20 de janeiro de 2023.

OSTADABBAS, Sarah *et al.* A passive quantitative measurement of airway resistance using depth data. In: **2014 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society**. IEEE, p. 5743-5747, 2014.

PANTEIX, G. *et al.* Pulmonary tuberculosis due to *Mycobacterium microti*: a study of six recent cases in France. **Journal of medical microbiology**, v. 59, n. 8, p. 984-989, 2010.

PALUCCI, Ivana *et al.* Inhibition of transglutaminase 2 as a potential host-directed therapy against *Mycobacterium tuberculosis*. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 3042, 2020.

RATHOD, Sanjay. Origin, evolution, and pathogenesis of coronaviruses. In: **Nanotechnological Applications in Virology**. Academic Press, p. 253-277, 2022.

RUSSO, Antonio *et al.* Current status of laboratory Diagnosis for COVID-19: a narrative review. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 2657, 2020.

RIBEIRO, S. A. *et al.* Síndrome respiratória aguda grave causada por influenza A (subtipo H1N1). **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 36, n. 3, 2010.

SELLERS, Subhashini A. *et al.* The hidden burden of influenza: a review of the extra-pulmonary complications of influenza infection. **Influenza and other respiratory viruses**, v. 11, n. 5, p. 372-393, 2017.

SHAH, Taif *et al.* Pathogenesis of SARS-CoV-2 and *Mycobacterium tuberculosis* coinfection. **Frontiers in immunology**, v. 13, 2022.

SHARIFIPOUR, Ehsan *et al.* Evaluation of bacterial co-infections of the respiratory tract in COVID-19 patients admitted to ICU. **BMC infectious diseases**, v. 20, n. 1, p. 1-7, 2020.

SHEREEN, Muhammad Adnan *et al.* COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. **Journal of advanced research**, v. 24, p. 91-98, 2020.

STURGILL-KOSZYCKI, Sheila *et al.* Lack of acidification in *Mycobacterium* phagosomes produced by exclusion of the vesicular proton-ATPase. **Science**, v. 263, n. 5147, p. 678-681, 1994.

MIRZAEI, Rasoul *et al.* Bacterial co-infections with SARS-CoV-2. **IUBMB life**, v. 72, n. 10, p. 2097-2111, 2020.

TRABOULSI, Hussein *et al.* The flavonoid isoliquiritigenin reduces lung inflammation and mouse morbidity during influenza virus infection. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 10, p. 6317-6327, 2015.

THOMAS M., *et al.* Structural basis for translational shutdown and immune evasion by the Nsp1 protein of SARS-CoV-2. **Science**, 369(6508):1249–1255, 2020.

UZUNIAN, Armênio. Coronavirus SARS-CoV-2 and Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, 2020.

VASCONCELLOS, Fernanda Corrêa da Silva; CHATKIN, Moema Nudilemon. Perfil epidemiológico da tuberculose empelotas-rio grande do sul-brasil. **Revista brasileira ciências da saúde**, p. 229-238, 2008.

VELAYATI, Ali Akbar; FARNIA, Parissa. The species concept. **Atlas of Mycobacterium Tuberculosis**; Elsevier: San Diego, CA, USA, 2017.

ZHANG, Yange *et al.* A duplex recombinant viral nucleoprotein microbead immunoassay for simultaneous detection of seroresponses to human respiratory syncytial virus and metapneumovirus infections. **Journal of virological methods**, v. 206, p. 55-62, 2014.

ZHOU, Yunying *et al.* Sensitivity evaluation of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) RT-PCR detection kits and strategy to reduce false negative. **PloS one**, v. 15, n. 11, p. e0241469, 2020.

WÖLFEL, Roman *et al.* Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. **Nature**, v. 581, n. 7809, p. 465-469, 2020.

WEBSTER, Robert G.; GOVORKOVA, Elena A. Continuing challenges in influenza. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1323, n. 1, p. 115-139, 2014.

Anexos

**UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE COINFEÇÃO POR *Mycobacterium tuberculosis* EM INDIVÍDUOS COM COVID-19 NA CIDADE DE PELOTAS, RS

Pesquisador: Rodrigo Casquero Cunha

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63615122.4.0000.5317

Instituição Proponente: Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.731.005

Apresentação do Projeto:

Desenho: Serão selecionadas amostras de swab nasofaringe de pacientes com diagnóstico "detectado" para SARS-CoV-2, previamente coletados no laboratório M&S Análises Clínicas, localizado na Avenida Francisco Caruccio, nº 180, Pelotas, RS, onde o experimento será realizado. As amostras utilizadas serão de pacientes de ambos os sexos, com idade não definida. Como critério de inclusão, serão selecionadas apenas amostras que foram submetidas à análise por RT-PCR em tempo real, com resultado "detectado". As amostras foram submetidas a RT-PCR em tempo real seguindo protocolos recomendados pela OMS, como o protocolo desenvolvido pelo Instituto de Virologia Charité, da Universidade de Berlim, Alemanha. Protocolo, este, que é utilizado no laboratório M&S, com validação pelo PNCQ (Programa Nacional de Controle de Qualidade). O manuseio das amostras será realizado em capela de fluxo laminar. Para a proteção individual durante a manipulação das amostras, serão utilizados EPI's e EPC's fornecidos pelo laboratório, sendo eles, máscara, luvas de procedimento, jalecos e toucas descartáveis e óculos de proteção.

Resumo: COVID-19, doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, que pode evoluir para síndrome respiratória aguda grave (SRAG), foi relatada pela primeira vez em dezembro de 2019, em Wuhan, na China. O vírus espalhou-se rapidamente, causando uma pandemia. Devido à falta de manejo clínico adequado com a doença, várias coinfeções por patógenos bacterianos e fúngicos foram relatadas, dentre elas a tuberculose, doença infectocontagiosa causada pelo *Mycobacterium*

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala 03
Bairro: Fragata **CEP:** 96.030-001
UF: RS **Município:** PELOTAS
Telefone: (53)3310-1801 **Fax:** (53)3221-3554 **E-mail:** cepfamed@ufpel.edu.br

UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS



Continuação do Parecer: 5.731.005

tuberculosis. Seus sintomas são semelhantes à COVID-19 e apresenta um grande fator de risco para os indivíduos infectados. O objetivo desta pesquisa é detectar *M. tuberculosis* em amostras positivas para COVID-19, por meio do método molecular PCR em tempo real. As análises serão realizadas a partir de amostras de pacientes positivos para COVID-19, coletadas e processadas no laboratório M&S Análises Clínicas.

Introdução - SARS-CoV-2 é um Betacoronavírus de fita simples, pertencente à família Coronaviridae, que está incluído no subgênero Sarbecovírus (linhagem B do gênero -CoV). O virion apresenta uma forma pleomórfica, com semelhança esférica e caracteriza-se por uma "coroa" externa com picos de proteína S. Seu genoma codifica 16 proteínas não estruturais (nsp 1-16), incluindo a RNA dependente RNA-polimerase (RdRp, nsp12) e a helicase (nsp 13). Também possui 4 proteínas estruturais, sendo elas a proteína spike (S), a proteína de membrana (M) e as glicoproteínas do nucleocapsídeo (N) e do envelope (E). (RUSSO et al., 2020). O primeiro caso de COVID-19 foi registrado no ano de 2019 em Wuhan, na China, e, em 2020, foi decretada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) a mais recente pandemia (ALOSAIMI et al., 2021). A transmissão do vírus ocorre por meio da inalação ou contato direto com gotículas infectadas e o período de incubação varia de 1 a 14 dias. Sabe-se, também, que, mesmo assintomático, o indivíduo pode transmitir o vírus (ESTEVÃO, 2020). Os sintomas mais comuns são febre, tosse seca, dispnéia, mialgia e fadiga. Casos graves costumam apresentar sinais e sintomas de pneumonia viral, podendo evoluir para uma Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) (ESTEVÃO, 2020). A tuberculose (TB), doença causada por *Mycobacterium tuberculosis*, é considerada um grave problema de saúde pública. Seus sintomas são semelhantes aos causados pela COVID-19 e ambos podem prejudicar o sistema imunológico desencadeando um quadro clínico grave (LAWATI et al., 2020). No mundo, sua incidência é em torno de 8,8 milhões de pessoas. O estado do Rio Grande do Sul (RS) ocupa o quarto lugar entre os estados brasileiros em número de pessoas infectadas, e a cidade de Pelotas, RS, é considerada referência regional para o tratamento da doença (VASCONCELLOS et al., 2008). A COVID-19 e a tuberculose necessitam de controle transversal; ambas são altamente infectocontagiosas, facilitando a interação entre as duas. Relata-se que o contágio do SARS-CoV-2 pode ocorrer antes ou depois da infecção por *M. tuberculosis*, sendo que pacientes com coinfeção necessitam de mais tempo de internação hospitalar, gerando também uma sobrecarga no sistema de saúde pública (COSTA et al., 2022). O objetivo desta pesquisa é pesquisar *M. tuberculosis* em amostras positivas para COVID-19 por meio de diagnóstico molecular, PCR em tempo real. **Hipótese:** Existe uma alta coinfeção de pacientes com COVID-19 e *M. tuberculosis*.

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala 03

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3310-1801

Fax: (53)3221-3554

E-mail: ceptamed@ufpel.edu.br

**UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS**



Continuação do Parecer: 5.731.005

Metodologia Proposta: Serão selecionadas amostras de swab nasofaringe de pacientes com diagnóstico "detectado" para SARSCoV-2, previamente coletados no laboratório M&S Análises Clínicas, localizado na Avenida Francisco Caruccio, nº 180, Pelotas, RS, onde o experimento será realizado. As amostras utilizadas serão de pacientes de ambos os sexos, com idade não definida. Como critério de inclusão, serão selecionadas apenas amostras que foram submetidas à análise por RT-PCR em tempo real, com resultado "detectado". As amostras foram submetidas a RT-PCR em tempo real seguindo protocolos recomendados pela OMS, como o protocolo desenvolvido pelo Instituto de Virologia Charité, da Universidade de Berlim, Alemanha. Protocolo, este, que é utilizado no laboratório M&S, com validação pelo PNCQ (Programa Nacional de Controle de Qualidade). O manuseio das amostras será realizado em capela de fluxo laminar. Para a proteção individual durante a manipulação das amostras, serão utilizados EPI's e EPC's fornecidos pelo laboratório, sendo eles, máscara, luvas de procedimento, jalecos e toucas descartáveis e óculos de proteção.

Metodologia de Análise de Dados: Tabela de distribuição de frequências, com cálculo de especificidade, sensibilidade, valores preditivos como detectado e não detectado.

Desfecho Primário: Com a metodologia proposta, espera-se concluir se há incidência de M. tuberculosis em amostras positivas para SARS-Cov-2, e qual a taxa de coinfeção entre os dois patógenos.

Tamanho da Amostra no Brasil: 100

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)? Não

Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa: 0

Propõe dispensa do TCLE? Sim

Justificativa: As amostras a serem utilizadas serão as que já foram coletadas e armazenadas pelo laboratório onde será realizado o experimento.

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco? Não

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Pesquisar M. tuberculosis em amostras positivas para COVID-19, por meio do método molecular PCR em tempo real.

Objetivos Secundários:

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala 03

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3310-1801

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cepfamed@ufpel.edu.br

**UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS**



Continuação do Parecer: 5.731.005

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1999161.pdf	29/10/2022 21:48:24		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCoinfeccaoetuberculose.docx	29/10/2022 21:48:09	Rodrigo Casquero Cunha	Aceito
Outros	Termodeatorizacao.pdf	29/10/2022 21:43:17	Rodrigo Casquero Cunha	Aceito
Outros	cartaresposta.docx	29/10/2022 21:38:15	Rodrigo Casquero Cunha	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRosto.pdf	28/08/2022 23:13:00	Rodrigo Casquero Cunha	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PELOTAS, 31 de Outubro de 2022

Assinado por:
Patricia Abrantes Duval
(Coordenador(a))

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala 03
Bairro: Fragata **CEP:** 96.030-001
UF: RS **Município:** PELOTAS
Telefone: (53)3310-1801 **Fax:** (53)3221-3554 **E-mail:** cepfamed@ufpel.edu.br