



KIT MOLECULAR PAINEL DE VÍRUS RESPIRATÓRIO (VR 1/VR 2) – Bio-Manguinhos

(48 reações) determinações

Uso em diagnóstico in vitro



KIT MOLECULAR PAINEL DE VÍRUS RESPIRATÓRIO (VR1/VR2) – Bio-Manguinhos

(48reações) determinações

Uso em diagnóstico in vitro

1. NOME COMERCIAL

Kit Molecular Pannel de Vírus Respiratório (VR1/VR2) Bio-Manguinhos.

2. FINALIDADE E MODO DE USO DO PRODUTO

O KIT MOLECULAR PAINEL DE VÍRUS RESPIRATÓRIO (VR1/VR2) Bio-Manguinhos, utilizando a tecnologia de PCR em Tempo Real, é indicado para o processamento de amostras clínicas previamente submetidas à etapa de extração de ácidos nucleicos. Este produto é composto por 2 ensaios que são capazes de detectar os Vírus Respiratórios (VR) e o gene constitutivo humano RNase P (RP) como controle interno de reação (CI) da seguinte forma:

1. **Ensaio 1 (VR1):** detecção de Influenza A (INF A), Influenza B (INF B), SARS CoV-2 (SC2), Metapneumovírus humano (HMPV) e RNase P (RP);
2. **Ensaio 2(VR2):** detecção de Vírus Sincicial Respiratório (RSV), Adenovírus (ADV), Rinovírus (HRV) e RNase P (RP).

PRODUTO DESTINADO EXCLUSIVAMENTE PARA USO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

3. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO, TRANSPORTE E ESTABILIDADE DO PRODUTO

O kit deve ser armazenado em uma faixa de temperatura entre -30 °C a -10 °C inclusive durante o transporte até o usuário.

Observação: Todos os reagentes deverão ser armazenados nas temperaturas indicadas no rótulo externo, desde o ato do recebimento até a utilização do conjunto, observando a data de validade.

4. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO TESTE

A metodologia para detecção e amplificação dos alvos do Kit Molecular Pannel de Vírus Respiratório (VR1/VR2) Bio-Manguinhos tem como base a metodologia de PCR em tempo real.

Segue abaixo, o fluxo metodológico (Figura 1):

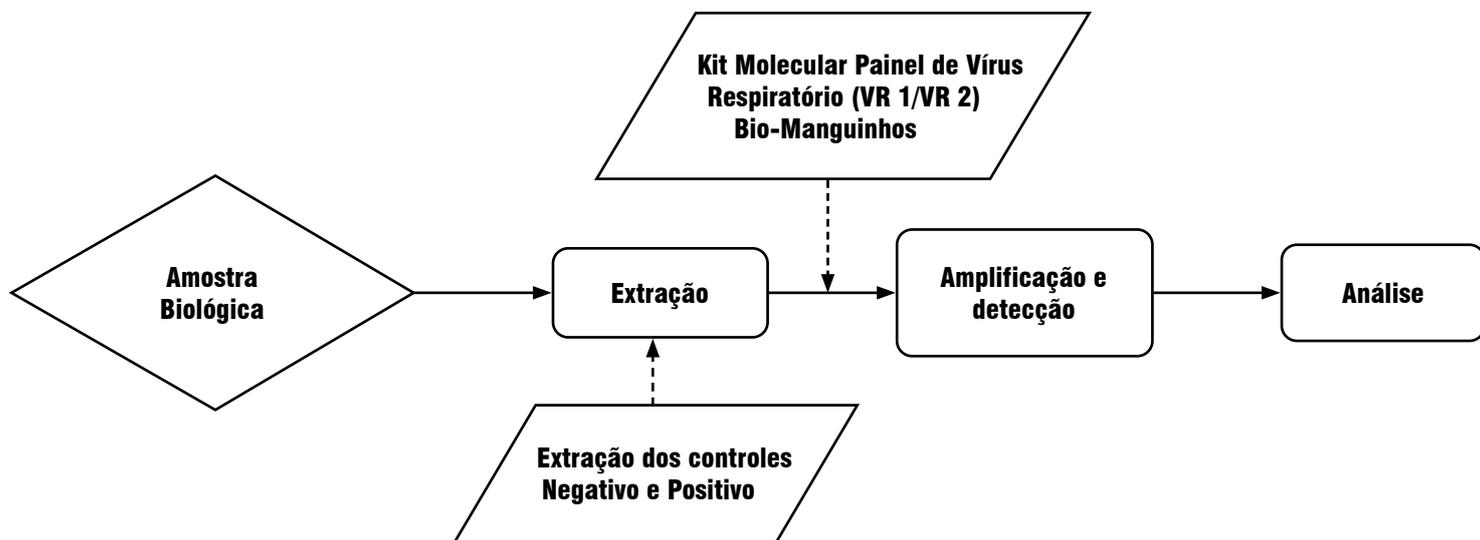


Figura 1: Fluxo para utilização do kit diagnóstico.

(a) Etapa prévia de **extração** de ácido nucléico da amostra biológica;

- Vide Manual de Instruções do fabricante do Kit de Extração de RNA a ser utilizado;
- Os controles negativo e positivo do Kit Molecular Painel de Vírus Respiratório (VR1/VR2) Bio-Manguinhos devem ser extraídos na mesma rotina em que forem extraídas as amostras clínicas para avaliação pelo kit.

Nota: Se o RNA extraído das amostras clínicas não for amplificado imediatamente após a extração, deverá ser armazenado de -30 °C a -10 °C.

(b) **Amplificação e detecção** do ácido nucléico por RT-PCR em tempo real;

- A transcrição reversa do RNA em DNA complementar (cDNA) antecede à amplificação. A metodologia de amplificação específica do alvo com sondas marcadas com fluorescência é usada para determinar a presença de VR e da RNase P. Os equipamentos indicados para serem utilizados na etapa de amplificação e de detecção são: 7500 Real Time PCR System, QuantStudio 6 Flex e QuantStudio 7 Flex da Applied Biosystems/Thermo Fisher Scientific somente em placas de 96 poços.

5. TIPOS DE AMOSTRAS

Este produto deve ser utilizado com ácido nucléico obtido a partir da extração de *swab* de nasofaringe ou nasal.

6. DESCRIÇÃO DO PRODUTO

6.1 Relação dos componentes fornecidos com o produto

		Componentes	Volume
Reagentes	Controles	Controle Negativo	1 frasco com 400 µL
		Controle Positivo	1 frasco com 400 µL
	Amplificação	Mistura de PCR VR 1	1 frasco com 300 µL
		Mistura de PCR VR 2	1 frasco com 300 µL
		Mix VR 1	1 frasco com 320 µL
		Mix VR 2	1 frasco com 320 µL

6.2. Materiais necessários não fornecidos

- Kit de extração de ácido nucléico;
- Luva descartável sem talco;
- Sacos de descarte de lixo biológico;
- Microcentrífuga;
- Ponteiras para uso único, com filtro e estéreis, de 20 µL, 100 µL, 200 µL e 1000 µL;
- Pipetas de 20 µL, 100 µL, 200 µL e 1000 µL;
- Microtubo 1,5 mL;
- Placa óptica de 96 reações;
- Selo óptico;
- Agitador para tubos e/ou microplacas;
- Centrífuga para tubos de 1,5 mL;
- Centrífuga para microplacas.

6.3. Versão do software BioLaudos

BioLaudos a partir da versão 2.3.2.

7. ESTABILIDADE EM USO DO PRODUTO E CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

A temperatura de armazenamento e transporte dos reagentes deve ser entre -30 °C a -10 °C.

Não são de responsabilidade do fabricante:

- Insumos armazenados fora da temperatura especificada;
- Os procedimentos da etapa de extração.

Todas as sobras de reagentes deverão ser descartadas após a utilização do kit de acordo com os procedimentos de cada laboratório.

8. PROCEDIMENTOS DO ENSAIO

8.1. Procedimento de Amplificação - 7500 Real Time PCR System, Quant Studio 6 Flex e QuantStudio 7 Flex em placa de 96 poços de 200µL.

- Retirar do freezer os reagentes descritos abaixo e aguardar o descongelamento dos mesmos à temperatura ambiente;
- Imediatamente após o descongelamento e antes do preparo da mistura de RT-PCR homogeneizar em vórtex e centrifugar (*spin*) os tubos dos reagentes de amplificação.

8.2. Preparo das misturas de reação de PCR VR1

- Adicionar 300 µL do Mix VR1 no tubo da Mistura de PCR VR 1 como informa a tabela abaixo:

Conjunto de reagentes VR 1	Volumes (µL)	
	1 reação	48 reações*
Mistura de PCR VR 1	5	300
Mix VR 1	5	300

*Valores incluindo volume morto de reação

- Homogeneizar vigorosamente a mistura de reação de PCR VR1 com auxílio de um *vórtex* ou uma pipeta, evitando formação de bolhas;
- Fazer uma rápida centrifugação (*spin*);

8.3. Preparo das misturas de reação de PCR VR 2

- Adicionar 300 µL do Mix VR 2 no tubo da Mistura de reação de PCR VR 2 como informa a tabela abaixo:

Conjunto de reagentes VR 2	Volumes (µL)	
	1 reação	48 reações*
Mistura de PCR VR 2	5	300
Mix VR 2	5	300

*Valores incluindo volume morto de reação

- Homogeneizar vigorosamente a mistura de RT-PCR VR2 com auxílio de um *vórtex* ou uma pipeta, evitando formação de bolhas;
- Fazer uma rápida centrifugação (*spin*).

8.4. Desenho da distribuição para 48 reações

- Adicionar 10 µL da mistura de RT-PCR VR1 e VR2 em cada poço da placa óptica (placa de amplificação), de acordo com a ilustração abaixo:

Distribuição de amostras e controles de amplificação	VR1						VR2					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Amostra 1	Amostra 9	Amostra 17	Amostra 25	Amostra 33	Amostra 41	Amostra 1	Amostra 9	Amostra 17	Amostra 25	Amostra 33	Amostra 41
B	Amostra 2	Amostra 10	Amostra 18	Amostra 26	Amostra 34	Amostra 42	Amostra 2	Amostra 10	Amostra 18	Amostra 26	Amostra 34	Amostra 42
C	Amostra 3	Amostra 11	Amostra 19	Amostra 27	Amostra 35	Amostra 43	Amostra 3	Amostra 11	Amostra 19	Amostra 27	Amostra 35	Amostra 43
D	Amostra 4	Amostra 12	Amostra 20	Amostra 28	Amostra 36	Amostra 44	Amostra 4	Amostra 12	Amostra 20	Amostra 28	Amostra 36	Amostra 44
E	Amostra 5	Amostra 13	Amostra 21	Amostra 29	Amostra 37	Amostra 45	Amostra 5	Amostra 13	Amostra 21	Amostra 29	Amostra 37	Amostra 45
F	Amostra 6	Amostra 14	Amostra 22	Amostra 30	Amostra 38	Amostra 46	Amostra 6	Amostra 14	Amostra 22	Amostra 30	Amostra 38	Amostra 46
G	Amostra 7	Amostra 15	Amostra 23	Amostra 31	Amostra 39	CNEG	Amostra 7	Amostra 15	Amostra 23	Amostra 31	Amostra 39	CNEG
H	Amostra 8	Amostra 16	Amostra 24	Amostra 32	Amostra 40	CPOS	Amostra 8	Amostra 16	Amostra 24	Amostra 32	Amostra 40	CPOS

Legenda:

CNEG – Controle Negativo

CPOS – Controle Positivo

8.5. Distribuição das 46 amostras dos pacientes e dos Controles Negativo e Positivo

- Adicionar 10 µL de cada amostra nos poços A1 até F6 para amplificação de VR1;
- Adicionar 10 µL de cada amostra nos poços A7 até F12 para amplificação de VR2;
- Adicionar 10 µL de Controle Negativo nos poços G6 e G12;
- Adicionar 10 µL de Controle Positivo nos poços H6 e H12;
- Após a adição na placa óptica da mistura de RT-PCR VR1 e VR2, dos controles negativo e positivo e das amostras dos pacientes, selar a placa com selo óptico.
- **Realizar a homogeneização por vórtex da placa de amplificação por 2 minutos a 1.200 rpm;**
- Verificar se em todos os poços o material está homogeneizado (observação da coloração azul claro);
- **Centrifugar a placa selada por 10 segundos** e iniciar a reação de RT-PCR no equipamento de PCR em tempo real.

8.6. Amplificação e detecção

- Ligar o computador do equipamento de PCR em tempo real;
- Ligar o equipamento de PCR em tempo real (ABI 7500 Real Time PCR System, QuantStudio 6 Flex ou QuantStudio 7 Flex);
- Colocar a placa de amplificação (óptica) no equipamento de PCR em tempo real;
- Evitar tocar no fundo da placa, certificando-se que a posição A1 da placa está posicionada no canto superior esquerdo;
- No computador do equipamento, clicar no ícone para abertura do *software* do equipamento 7500 Real Time PCR System ou QuantStudio;
- Após a inicialização do *software*, clicar no ícone **Template**;
- Abrir o **template: Deteccao VR1 e VR2.edt**;
- Antes de iniciar a corrida, salvá-la (arquivo eds). É sugerido salvar a corrida colocando a data de realização do teste, em uma pasta no *desktop* denominada Kit Molecular Painel de Vírus Respiratório VR1 VR2;
- Clicar no ícone **Start Run**;
- Após o término da corrida, transfira-a para um *pendrive* para análise no software *Design and Analysis*.

INFORMAÇÃO IMPORTANTE:

Para a análise adequada dos resultados, é necessário:

- 1- Adicionar o template (.edt) indicado anteriormente no computador do equipamento de PCR em tempo real;
- 2- Utilizar o software Design and Analysis (Thermo Fisher) para análise dos resultados após o término de cada corrida (arquivo.eds);
- 3- Instalar o software BioLaudos para geração de laudo.

Orientações para obtenção de templates, download, instalação e utilização dos softwares de análise, entrar em contato com DIACM de Bio-Manguinhos pelo e-mail moleculares@bio.fiocruz.br ou pelo telefone 0800 0210 310.

9. OBTENÇÃO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

9.1. Critérios de Aceitação dos Controles Negativo e Positivo

Abaixo estão relacionados os critérios de aceitação para aprovação dos resultados de Controles Negativo e Positivo, com o objetivo de validar a rotina de PCR.

Controle	Ct	Resultados
Negativo	Não detectado para todos os alvos virais. Ct ≤ 35 para o alvo RP	Rotina válida
	Detectado qualquer um dos alvos virais com Ct ≤ 38; independente do resultado do alvo RP	Rotina inválida: Repetir o teste. Possível contaminação.
Positivo	Ct ≤ 35 para os alvos virais e RP	Rotina válida
	Ct >35 para qualquer um dos alvos virais e RP	Rotina inválida: Repetir o teste, possível problema durante a extração e/ou preparação da mistura de RT-PCR

9.2. Interpretação dos resultados

Na tabela abaixo, estão descritos os critérios de interpretação de cada alvo com relação ao Ct obtido (detectado ou não detectado).

Alvos	Valor de Ct	Resultados
INF A	Ct < 38	Detectado
	Ct ≥ 38	Não detectado
INF B	Ct < 38	Detectado
	Ct ≥ 38	Não detectado
HMPV	Ct < 38	Detectado
	Ct ≥ 38	Não detectado
SC2	Ct < 38	Detectado
	Ct ≥ 38	Não detectado
ADV	Ct < 38	Detectado
	Ct ≥ 38	Não detectado
HRV	Ct < 38	Detectado
	Ct ≥ 38	Não detectado
RSV	Ct < 38	Detectado
	Ct ≥ 38	Não detectado
RP	Ct < 35	Detectado
	Ct ≥ 35	Não detectado

Na tabela abaixo, estão descritos os critérios de interpretação de cada alvo com relação ao diagnóstico (detectado ou não detectado):

- Mix VR 1:

Interpretação de resultados alvos VR1					
INF A	INF B	HMPV	SC2	RP	Resultado
Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Influenza A
Não Detectado	Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Influenza B
Não Detectado	Não Detectado	Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Metapneumovírus
Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Detectado	Não avaliado	Detectado SARS CoV-2
Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Detectado	Não Detectado
Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Repetir o teste: possível problema durante a preparação das misturas de RT-PCR ou extração de ácidos nucleicos
Detectado	Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Influenza A e Detectado Influenza B.
Detectado	Não Detectado	Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Influenza A e Detectado Metapneumovírus.
Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Detectado	Não avaliado	Detectado Influenza A e Detectado SARSCoV-2.
Não Detectado	Detectado	Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Influenza B e Detectado Metapneumovírus.
Não Detectado	Detectado	Não Detectado	Detectado	Não avaliado	Detectado Influenza B e Detectado SARSCoV-2.
Não Detectado	Não Detectado	Detectado	Detectado	Não avaliado	Detectado Metapneumovírus e Detectado SARSCoV-2.

- Mix VR 2:

Interpretação de resultados alvos VR2				
RSV	ADV	RHV	RP	Resultado
Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Virus Sincicial Respiratório
Não Detectado	Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Adenovírus
Não Detectado	Não Detectado	Detectado	Não avaliado	Detectado Rinovírus/Enterovírus
Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Detectado	Não Detectado
Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Não Detectado	Repetir o teste: possível problema durante a preparação das misturas de RT-PCR ou extração de ácidos nucleicos
Detectado	Detectado	Não Detectado	Não avaliado	Detectado Virus Sincicial Respiratório e Adenovírus.
Detectado	Não Detectado	Detectado	Não avaliado	Detectado Virus Sincicial Respiratório e Rinovírus/Enterovírus.
Não Detectado	Detectado	Detectado	Não avaliado	Detectado e Adenovírus e Rinovírus/Enterovírus.

9.3. Observações gerais

- Quando o Alvo RP apresentar o resultado não detectado e os alvos virais também apresentarem o resultado não detectado, é importante realizar a repetição do ensaio a partir de uma nova extração e uma nova amplificação. Este resultado é indicativo de possíveis problemas na etapa de extração, devido à qualidade da amostra coletada e/ou volume insuficiente de extração. Se o resultado se mantiver, deve ser solicitada nova amostra;
- Todos os resultados deverão ser analisados de acordo com os critérios descritos nos itens 9.1 e 9.2;
- Quando qualquer alvo dos mixes VR1 ou VR2 apresentarem resultado **Detectado**, o alvo RP poderá não ser avaliado para a conclusão do ensaio.

10. USUÁRIO PRETENDIDO

Profissional técnico capacitado para processamento de amostras clínicas, para utilização de insumos/Kit e manuseio de equipamentos necessários para o diagnóstico molecular baseado na técnica de PCR em tempo real.

11. INTERFERENTES E LIMITAÇÕES DO ENSAIO

Para evitar limitações no momento da detecção dos alvos do kit, sugerimos evitar o uso de *swabs* alginatados ou de algodão para a coleta de material biológico.

12. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

12.1 Especificidade analítica e clínica

Não houve reação cruzada quando analisadas amostras verdadeiras positivas para Varicela Zoster Virus, Monkeypox virus, Herpes Simples Vírus tipos 1 e 2 e Vírus do Sarampo e da Rubéola.

O Kit Molecular Painel de Vírus Respiratório (VR1/VR2) Bio-Manguinhos apresentou especificidade analítica e clínica de 100%.

As sequências de iniciadores e sonda para amplificação do alvo Rinovírus (HRV) pode apresentar similaridade para amplificar gênero Enterovírus.

12.2. Sensibilidade Analítica

O teste é capaz de detectar na reação: 1 cópia/ μL (10 cópias/reação) para os alvos INF A, HMPV, HRV e RSV. Já para os alvos SC2, INF B e ADV, o kit é capaz de detectar 2 cópias/ μL (20 cópias/reação).

As análises PROBIT (IBM SPSS Statistics v29.0.1), considerando uma taxa de 95% de positividade e um intervalo de confiança (IC) de 95%, apresentaram sensibilidade estimada em 0,07 cópias/ μL (0,7 cópias/reação) para o alvo INF A, 0,4 cópias/ μL (4 cópias/reação) para o alvo INF B, 1,19 cópias/ μL (11,19 cópias/reação) para o alvo SC2, 0,67 cópias/ μL (6,7 cópias/reação) para o alvo HMPV, 0,61 cópias/ μL (6,1 cópias/reação) para o alvo ADV, 0,62 cópias/ μL (6,2 cópias/reação) para o alvo HRV e 0,02 cópias/ μL (0,2 cópias/reação) para o alvo RSV.

12.3. Sensibilidade Clínica

Quando testadas amostras verdadeiras positivas, Kit Molecular Painel de Vírus Respiratório (VR 1/VR 2) Bio-Manguinhos apresentou 100% de concordância para os vírus Influenza A (INF A), Influenza B (INF B), SARS-CoV-2 (SC2), Metapneumovírus humano (HMPV), Adenovírus (ADV), Rinovírus (HRV) e Virus Sincicial respiratório (RSV).

Observação: A quantificação dos painéis internacionais foi realizada utilizando o extrator automatizado Chemagic™ prime 96 (Revvity, inc.), seguida de quantificação por PCR digital (QIAcuity™, QIAGEN), a qual foi estabelecida e validada seguindo critérios internacionais (dMIQE, 2020). Os resultados obtidos são aplicáveis a esta metodologia e a quantificação definida por outros métodos não são necessariamente equivalentes.

12.4. Precisão

O cálculo e avaliação da precisão do teste obtiveram os valores do coeficiente de variação (CV) para cada um dos alvos conforme tabelas a seguir:

Alvos	INF A	INF B	SC2	HMPV	ADV	HRV	RSV
CV%	0,52	0,5	0,5	0,42	2,57	0,91	0,9

Com isso, pode-se estabelecer que a precisão geral do kit, dada em coeficiente de variação (CV) varia entre 0,5% e 2,57%.

12.5. Exatidão

Os valores de exatidão expressos pelo Erro Padrão Relativo (EPR %) para todos os alvos VR1 e VR2, estão descritos nas tabelas abaixo:

Alvos	INF A	INF B	SC2	HMPV	ADV	HRV	RSV
EPR máximo %	0,1	-0,4	-0,03	-0,4	0,7	0,3	-0,3
EPR mínimo %	-0,3	-0,9	-0,4	-0,8	-1,6	-0,8	-1,2

Então, conclui-se que o erro padrão relativo varia entre -1,6% e 0,7%.

13. RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

Ao manusear qualquer um dos reagentes, observe as precauções necessárias. A qualidade dos resultados obtidos depende do cumprimento às boas práticas de laboratório tais como:

- Utilizar equipamento de proteção individual (EPI): luvas descartáveis (sem talco) e jaleco em todas as etapas do teste;
- Após o uso, desprezar ponteiros, tubos, placas, reagentes, insumos/produtos no descarte de risco biológico;
- Desprezar a placa óptica, após a amplificação e detecção, em descarte biológico;
- Todas as sobras de reagentes deverão ser descartadas após a utilização de cada do kit, de acordo com os procedimentos de cada laboratório;

- Não usar reagentes com a validade vencida;
- Nunca misturar componentes de lotes diferentes;
- O teste deve ser usado somente para monitoramento *in vitro* e USO PROFISSIONAL, de acordo com as instruções fornecidas no kit.

14. DESCARTE DO PRODUTO

Após o uso, os componentes do produto devem ser descartados em recipientes destinados ao lixo biológico. Os reagentes da etapa de extração (manual ou automatizada) devem ser descartados de acordo com a orientação do fabricante.

15. TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Este produto foi desenvolvido por meio de procedimentos registrados e em instalações de acordo com normas internas de Biossegurança e Boas Práticas de Laboratório. O fabricante garante a qualidade do kit mediante seu uso adequado, descrito nestas Instruções de Uso, bem como orientações dadas durante o treinamento fornecido ao usuário.

16. RAZÃO SOCIAL DO FABRICANTE E SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Anvisa: 80142170071

Resp. téc: Edimilson Domingos da Silva, CRBio-02 N°: 21433-02.

Fabricante:

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos
Av. Brasil, 4365 – Manguinhos – CEP: 21040-360 – Rio de Janeiro- RJ
CNPJ: 33.781.055/0015-30 – Indústria Brasileira

Regularizado por:

Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz
Av. Brasil, 4365 – CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro – RJ
CNPJ 33.781.055/0001-35

Orientações técnicas adicionais a respeito deste produto poderão ser obtidas junto ao:

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos
CNPJ: 33.781.055/0015-30
Av. Brasil, 4365 – CEP: 21040-360 – Rio de Janeiro – RJ
SAC: 08000.210.310 ou moleculares@bio.fiocruz.br

Para versão impressa deste manual, entre em contato com o SAC.

PROIBIDA VENDA AO COMÉRCIO

17. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CDC. SARS-CoV-2 variant classifications and definitions. 2022.

COX NJ, SUBBARAO K. Influenza. *Lancet* 354: 1277-1282, 1999.

dMIQE GROUP; Huggett JF. The Digital MIQE Guidelines Update: Minimum Information for Publication of Quantitative Digital PCR Experiments for 2020. *Clin Chem*. 2020 Aug 1;66(8):1012-1029. Doi: 10.1093/clinchem/hvaa125. Erratum in: *Clin Chem*. 2020 Nov 1;66(11):1464. PMID: 32746458.

DOLIN R. Common viral respiratory infections and severe acute respiratory syndrome (SARS). In: FAUCI, A.S. et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17 ed. Philadelphia: MacGraw-Hill, 2007.

FALSEY, A.R. Community-acquired viral pneumonia. *Clin Geriatr Med.*, v. 23, p.535-52, 2007.

FOUCHIER, R. A. et al. Respiratory virus infections: human metapneumovirus, avian influenza virus, and human coronaviruses. *Curr Opin Infect Dis.*, v. 18, p.141-46, 2005.

GONZALES, R. et al. Principles of appropriate antibiotic use for treatment of acute respiratory tract infections in adults: background, specific aims, and methods. *Ann Intern Med.*, v.134, p. 479-86, 2001.

GREENBERG, S. B. Respiratory viral infections in adults. *Curr OpinPulm Med.*, v. 8, p. 201-8, 2002.

MORIYAMA M., HUGENTOBLE W. J. E IWASAKI A. Seasonality of Respiratory Viral Infections. *Annual Review of Virology*. 2020.7.83-101.

OSTERHAUS AD, RIMMELZWAAN GF, MARTINA BE, BESTEBROER TM, FOUCHIER RA (2000). «Influenza B virus in seals». *Science*.288 (5468):1051–3.PMID.

PIERCE VM, ELKAN M, LEET M, MCGOWAN KL, HODINKA RL. Comparison of the Idaho Technology FilmArray system to real-time PCR for detection of respiratory pathogens in children. *J Clin Microbiol*. 2012 Feb;50(2):364-71. doi: 10.1128/JCM.05996-11. Epub 2011 Nov 23. PMID: 22116144; PMCID: PMC3264185.

TREANOR, J. J.; HAYDEN, F. G. Viral infections. In: MASON, R. J. et al. *Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine*. 4. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, p. 867-919, 2000.

UK Health Security Agency. Investigation of SARS-CoV-2 variants: technical briefing documents on novel SARS-CoV-2 variants. 2022.

ZHU N, ZHANG D, WANG W, ET AL. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 Feb 20;382(8):727-33.