

Introdução: A vigilância de infecções respiratórias causadas por vírus é importante para o manejo de epidemias sazonais, definição de grupos de risco e alocação de recursos hospitalares. Estas infecções respiratórias demandam diagnóstico laboratorial eficiente para direcionar ações de manejo destes pacientes. Neste trabalho, foi desenvolvido um ensaio *one-step duplex real-time RT-PCR* para otimizar a eficiência do diagnóstico de Influenza A/B em infecções respiratórias agudas. Materiais e Métodos: Foram selecionadas 250 amostras de aspirado de nasofaringe coletadas e submetidas à imunofluorescência indireta (IFI) para pesquisa de vírus respiratórios durante o ano de 2010. As amostras foram submetidas à extração do RNA viral utilizando kit comercial (QIAmp RNA viral – Qiagen). A amplificação foi direcionada ao gene que codifica a proteína da matriz do Influenza A (FluA) e hemaglutinina do Influenza B (FluB), utilizando sondas do tipo *TaqMan* com marcações fluorescentes FAM e VIC respectivamente. O equipamento utilizado foi o SDS 7500 da Applied Biosystems. As amplificações foram realizadas separadamente e simultaneamente (*duplex*) para teste de desempenho de cada ensaio. Resultados e Conclusões: O ensaio do tipo *duplex* apresentou bom desempenho e foi adotado para a triagem das 250 amostras. O ensaio IFI detectou apenas 3 amostras FluB enquanto o *one-step duplex real-time RT-PCR* detectou 9 amostras FluB. Em nenhum dos ensaios foi detectada a presença de FluA nas amostras testadas. Assim, o ensaio de PCR em tempo real aumentou significativamente a detecção de vírus influenza nas amostras testadas. Portanto, este ensaio mostrou-se eficiente e de fácil execução, podendo ser utilizado tanto como teste laboratorial para diagnóstico em infecções respiratórias, como para auxiliar na vigilância epidemiológica do vírus Influenza.