

RELATÓRIO DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SARS-CoV-2 POSITIVAS REALIZADO NO LACEN-MT PARA IDENTIFICAÇÃO E MONITORAMENTO DAS VARIANTES CIRCULANTES NO ESTADO DE MATO GROSSO



O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples (+ ssRNA), não segmentado, com polaridade positiva. Seu genoma possui tamanho surpreendentemente grande, variando de 27 a 32 quilobases¹. Ele pertence à família Coronaviridae, gênero betacoronavírus, sendo conhecido como SARS-CoV-2. Esse vírus está associado à síndrome respiratória aguda grave (SRAG) e possui alto potencial de dispersão². O genoma do SARS-CoV-2 codifica proteínas não estruturais, além de quatro proteínas estruturais: espícula (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N), juntamente com várias proteínas acessórias^{3,4}.

O sequenciamento genético é uma poderosa ferramenta que permite a leitura dos genomas virais, possibilitando a identificação de novos patógenos e o aprimoramento da compreensão das origens e transmissão de vírus emergentes. No caso do SARS-CoV-2, o sequenciamento genético desempenha um papel essencial para acompanhar, monitorar e identificar a circulação de diferentes linhagens e sublinhagens em todo o estado. Isso é particularmente importante, uma vez que o vírus continua a sofrer mutações que diferem da estirpe original identificada em Wuhan.

Dentro desse contexto, surgem as Variantes de Preocupação (VOC, do inglês Variants of Concern) e as Variantes de Interesse (VOI, do inglês Variants of Interest). As VOC são variantes do SARS-CoV-2 que apresentam mutações genéticas específicas associadas a um aumento na transmissibilidade, maior gravidade da doença ou redução da eficácia de tratamentos e vacinas. Exemplos de VOC incluem as variantes Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1) e Delta (B.1.617.2). Por outro lado, as VOI são variantes que possuem mutações genéticas relevantes, mas cuja importância clínica e impacto na saúde pública ainda estão sendo investigados.

O Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso (LACEN-MT) realizou o sequenciamento genético de 15 amostras positivas para o SARS-CoV-2 entre os dias 26 a 29 Setembro de 2023. Durante o processo, uma amostra de controle foi utilizada para avaliar a qualidade do sequenciamento, totalizando um número total de 16 amostras. As amostras foram coletadas nos municípios de Aripuanã (N: 14) e Primavera do Leste (N: 1) (**Figura 1**).

O sequenciamento genético dessas amostras permitirá obter informações detalhadas sobre as linhagens e sublinhagens do SARS-CoV-2 circulantes em diferentes regiões de Mato Grosso. Esses dados serão fundamentais para auxiliar nas estratégias de saúde pública, no rastreamento de surtos, na avaliação da eficácia das medidas de controle e na compreensão da dinâmica de disseminação do vírus.

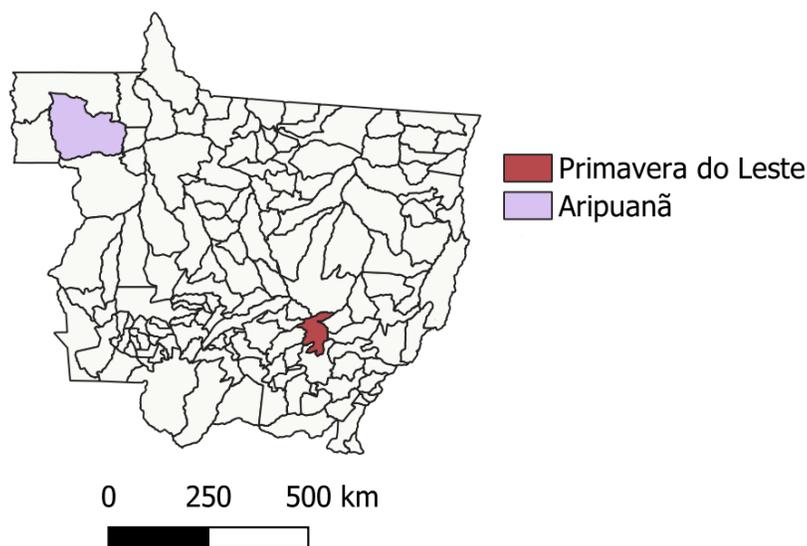


Figura 1: Mapa do Estado de Mato Grosso, destacando os municípios onde foram obtidas as amostras e caracterizadas as novas sequências genômicas do SARS-CoV-2.

Os genomas foram sequenciados utilizando a tecnologia desenvolvida pela Illumina (MiSeq), apresentando valores de cobertura de 40 a 98% do genoma total (**Tabela 1**).

As sequências genômicas obtidas foram alinhadas com o primeiro genoma de referência de Wuhan e analisadas pelos softwares como: Nextclade; CodonCode; AliView e montadas pelo pipeline Viral Flow.

A avaliação da linhagem foi realizada utilizando duas ferramentas *Pangolin* e Nextclade (<https://clades.nextstrain.org/>).

Tabela1: Informações sobre as amostras sequenciadas, cobertura do genoma e as respectivas linhagens identificadas do vírus SARS-CoV-2.

N° do barcode	N° Intemo	Requisição_GAL_Sequenciamento	CTN, ORF1,S	Tipo de Amostra	Município	Data Sintomas	Data Coleta	Idade	Sexo	Reads	Medin Coverage	Coverage	Lineagens	ID_sequencia	ID_Amostra	LACEN
A5	843	230101001051	24	Swab	ARIPUANÁ	18/06/2023	21/06/23	74	M	368679	768	1.025.689.396	XBB.1.5	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516861/2023	510516861	LACEN-MT
B5	844	230101001052	25	Swab	ARIPUANÁ	12/06/2023	16/06/23	48	F	694459	1744	1.968.749.022	XBB.1.18.1	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516873/2023	510516873	LACEN-MT
C5	845	230101001053	25	Swab	ARIPUANÁ	13/06/2023	15/06/23	43	F	760859	1850	2.130.027.389	FE.1.2	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516874/2023	510516874	LACEN-MT
D5	846	230101001054	24	Swab	ARIPUANÁ	15/06/2023	16/06/23	35	M	711824	1730	1.999.117.781	XBB.1.18.1	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516875/2023	510516875	LACEN-MT
E5	848	230101001055	26	Swab	ARIPUANÁ	17/06/2023	20/06/23	29	F	1009646	2431	2.823.966.525	FE.1.2	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516876/2023	510516876	LACEN-MT
F5	849	230101001056	21	Swab	ARIPUANÁ	17/06/2023	20/06/23	49	M	710852	1974	202.578.146	FE.1.2	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516878/2023	510516878	LACEN-MT
G5	850	230101001057	24	Swab	ARIPUANÁ	17/06/2023	19/06/23	45	F	467136	1228	1.318.541.451	FE.1.2	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516879/2023	510516879	LACEN-MT
H5	852	230101001058	21	Swab	ARIPUANÁ	14/06/2023	17/06/23	31	M	74733	201	213.249.674	FE.1.2	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516880/2023	510516880	LACEN-MT
A6	853	230101001059	29	Swab	ARIPUANÁ	27/06/2023	01/07/23	31	F	210547	206	579.434.739	FE.1.1	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516882/2023	510516882	LACEN-MT
B6	855	230101001060	21	Swab	ARIPUANÁ	25/06/2023	27/06/23	15	M	377356	1023	1.075.020.399	XBB.1.5	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516883/2023	510516883	LACEN-MT
C6	856	230101001061	28	Swab	ARIPUANÁ	25/06/2023	27/06/23	45	F	371316	226	1.004.978.932	FE.1.2	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516884/2023	510516884	LACEN-MT
D6	857	230101001062	27	Swab	ARIPUANÁ	27/06/2023	01/07/23	30	F	136766	4	346.246.765	XBB.1	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516885/2023	510516885	LACEN-MT
E6	858	230101001063	25	Swab	ARIPUANÁ	27/06/2023	01/07/23	28	M	432901	1099	1.260.529.245	XBB.1.18.1	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516886/2023	510516886	LACEN-MT
F6	859	230101001064	28	Swab	ARIPUANÁ	28/06/2023	30/06/23	31	M	604823	1094	1.687.826.238	FE.1	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516887/2023	510516887	LACEN-MT
G6	878	230101001065	26	Swab	PRIMAVERA DO LESTE	08/07/2023	11/07/23	74	M	989302	2568	2.772.336.923	GK.1	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510516888/2023	510516888	LACEN-MT
H6	CN															

Foram detectadas apenas variante ômicron, cujo permanece no território brasileiro conforme a **Figura 2**. Os dados para produzir os gráficos foram atualizados em 02 de outubro de 2023 às 00:00 UTC, que ilustra as entradas das linhagens ao longo do tempo de 2023.

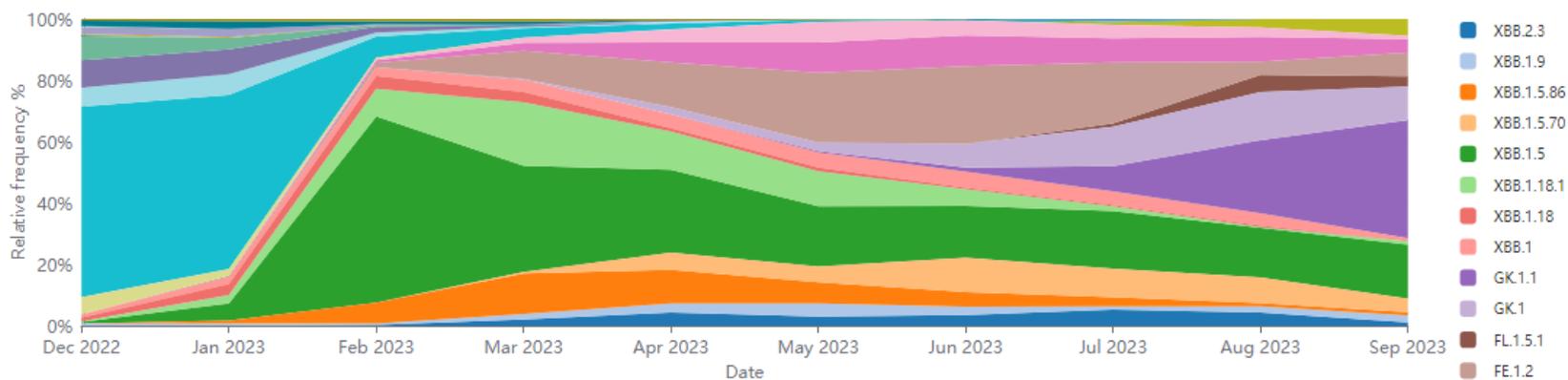


Figura 2- Frequências relativas de linhagem ao longo do tempo.

Coronavirus Typing Tool analysis results

- International A_B Diversity —
- Alpha (B.1.1.7 I20) —
- Beta (B.1.351 20H) —
- Gamma (P.1 20J) —
- Delta (B.1.617.2 21A,21I,21J) —
- Omicron (BA.1 21K) —
- Omicron (BA.2 21L) —
- Omicron (BA.1/BA.2) —
- Omicron (BA.4 22A) —
- Omicron (BA.5 22B) —

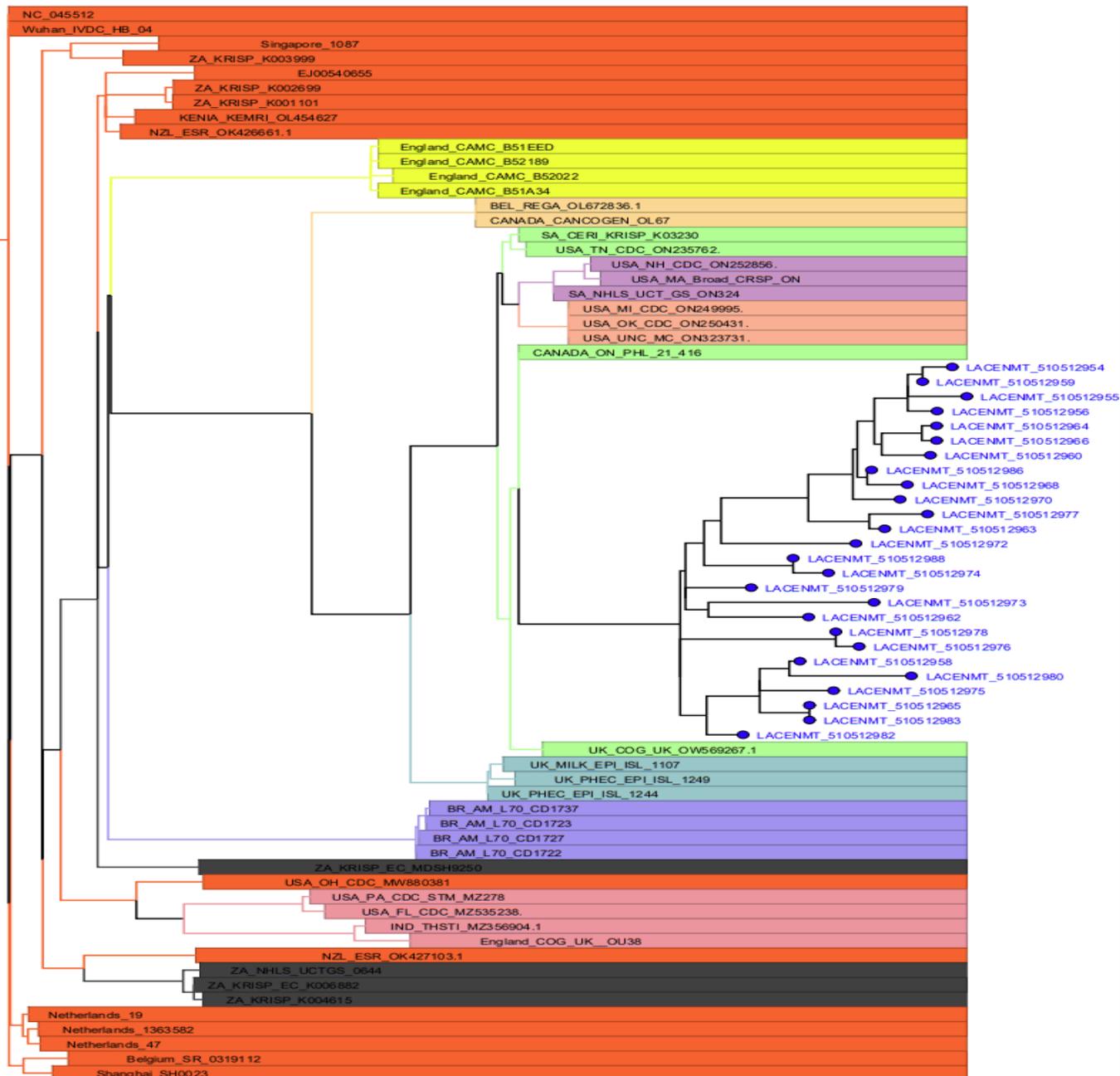
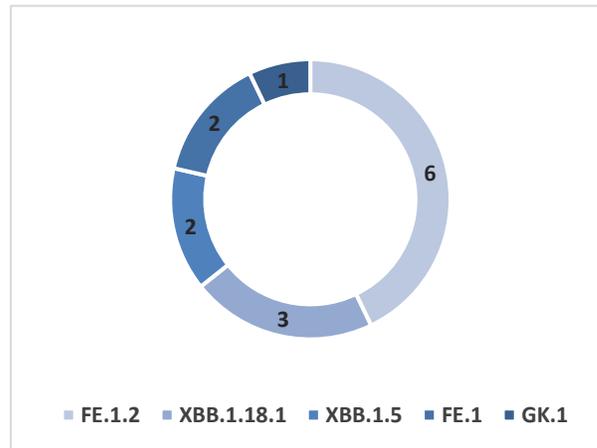


Figura 3: Filogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando as sequências genômicas isoladas em Mato Grosso (em azul) e sequências de referência presentes no banco de dados da ferramenta *Genome Detective*.

A árvore filogenética foi montada através do Typingtool (<https://www.genomedetective.com/app/typingtool/cov/>), cujo as amostras foram agrupadas no clado CANADA_ON_PHL_21_416 (**Figura 3**).



Dos 15 genomas sequenciados, 14 foram aprovados no controle de qualidade, e posteriormente sendo aptas ao depósito na plataforma GISAID. Após a análise dos dados dos genomas, todas as amostras foram identificadas como variantes Ômicron do SARS-CoV-2, demonstrando uma prevalência de 100% entre as amostras analisadas, isso pode estar relacionada à sua alta transmissibilidade e ao aumento do número de infecções registradas no Estado de Mato Grosso. A variante Ômicron foi detectada em novembro de 2021 na África do Sul e anunciada pela OMS (CHEN et al., 2022).

Além disso, a disseminação da variante pode ter sido influenciada pela ocorrência de eventos de importação e disseminação do vírus, bem como pela ausência de medidas preventivas para controlar sua propagação.

Ao analisar e compreender o histórico do Sars-CoV-2, especialistas e autoridades de saúde podem tomar medidas apropriadas para conter a disseminação do vírus, além de realizar análises filogenéticas detalhadas sobre a propagação do vírus na região. É importante ressaltar que a mobilidade humana desempenha um papel fundamental na disseminação do SARS-CoV-2.

Portanto, é crucial implementar medidas preventivas contínuas para minimizar a circulação desse patógeno no estado de Mato Grosso. Essas medidas são essenciais para reduzir o risco de transmissão, proteger a saúde da população e controlar a propagação do vírus.

REFERÊNCIAS

- 1- Cleemput, S. et al. "Genome Detective Coronavirus Typing Tool for rapid identification and characterization of novel coronavirus genomes." *Bioinformatics*, 2020.
- 2- Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2020 Oct;1866(10):165878. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092544392030226X>.
- 3- Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med*. 2020;382:1199-207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
- 4- Cleemput, S. et al. "Genome Detective Coronavirus Typing Tool for rapid identification and characterization of novel coronavirus genomes." *Bioinformatics*, 2020.
- 5- CHEN, J. et al. Omicron variant (B. 1.1. 529): Infectivity, vaccine breakthrough, and antibody resistance. *Journal of chemical information and modeling*, v. 62, n. 2, p. 412- 422, 2022.

Responsáveis técnicos

Stephanni Figueiredo da Silva

Júlia Deffune Profeta Cidin

Almeida

Luana Barbosa da Silva

Elaine Cristina de Oliveira (Diretora do LACEN-
MT)