



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

O Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Mato Grosso (LACEN-MT), é referência em diversos exames de patologia clínica, sorologia, virologia e exames da área de bromatologia e de ambiente para realização em Cuiabá ou encaminhamento para laboratórios de referência da rede nacional. Na atual pandemia de COVID-19, tem-se dedicado ao diagnóstico molecular do SARS-CoV-2 de pacientes de todo Estado com quadro diagnóstico suspeito, além de recentemente iniciar o sequenciamento de nova geração de amostras positivas.

Considerando a circulação de um novo membro da família *Coronaviridae* responsável por quadros de infecção respiratória e um alto teor de dispersão, é essencial a atuação da Vigilância Genômica, a fim de possibilitar a identificação e o monitoramento das variantes circulantes, suas respectivas mutações virais e evolução desse vírus ao longo do tempo para que possa auxiliar em futuras decisões na saúde pública.

Durante o período de 16 de novembro a 06 de dezembro de 2021, a equipe do LACEN-MT realizou o sequenciamento de 32 genomas completos do SARS-CoV-2, provenientes de pacientes com sintomas de infecção e diagnóstico positivo para COVID-19, referentes a 22 municípios, sendo, Água Boa (1), Arenápolis (1), Campo Novo do Parecis (3), Campos de Júlio (1), Chapada dos Guimarães (1), Cuiabá (3), Jaciara (2), Juara (1), Lambari D'Oeste (1), Matupá (2), Mirassol D'Oeste (1), Nobres (1), Nova Brasilândia (2), Nova São Joaquim (1), Nova Xavantina (1), Pontes e Lacerda (1), Santa Carmem (4), Santa Rita do Trivelato (1), Sapezal (1), Sinop (1), Tapurah (1) e Várzea Grande (1) (Figura 1).

Com a finalidade de identificar e monitorar as variantes circulantes e co-circulantes no Estado de Mato Grosso, a escolha das amostras foi baseada na representatividade das regiões geográficas do Estado, além de atender aos seguintes critérios estabelecidos pela Vigilância Epidemiológica: suspeitas e/ou contatos de VOC (do inglês *Variants of concern*, variantes de preocupação) e VOI





(do inglês *Variants of interest* , variantes de interesse), óbitos, casos graves e com rápida evolução, amostras com carga viral alta, além de pacientes com diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 com histórico de viagem para fora de Mato Grosso e/ ou Brasil.

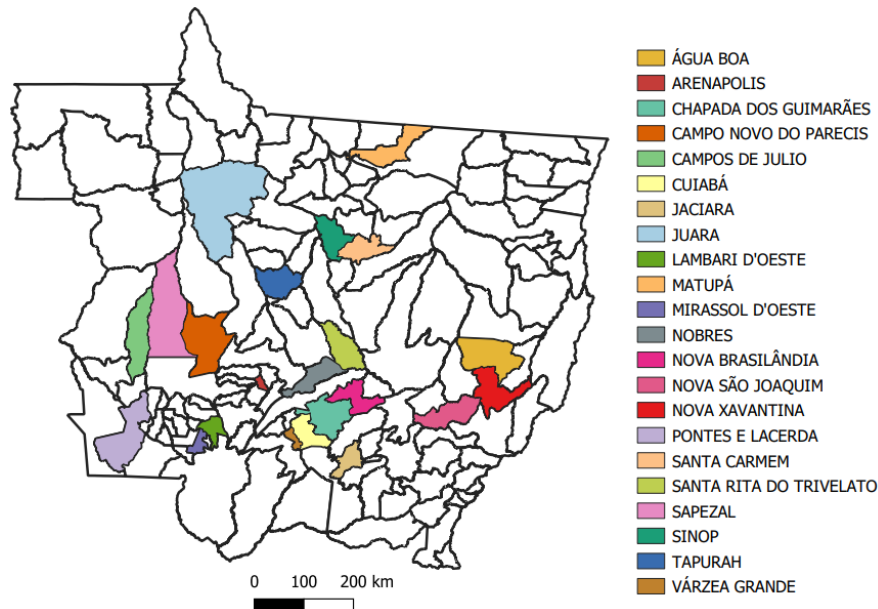


Figura 1: Mapa do Estado de Mato Grosso, destacando os municípios onde foram obtidas e caracterizadas as novas sequências genômicas do SARS-CoV-2.

Os genomas foram sequenciados utilizando a tecnologia desenvolvida pela Thermo Fisher Scientific (Ion Genestudio S5 Plus), apresentando em sua grande maioria cobertura superior a 90% do genoma total (Tabela 1).

As amostras selecionadas apresentaram valores de CT (cycle threshold) que variaram entre 15 e 26.

As sequências genômicas obtidas foram analisadas utilizando o software *Genome Detective- Coronavirus Typing Tool*, disponível online (<https://www.genomedetective.com/app/typingtool/virus/>) (CLEEMPUT et al., 2020).

A avaliação da linhagem foi realizada utilizando a ferramenta *Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak LINEages* disponível em (<https://github.com/hCoV-2019/pangolin>), seguindo a recente classificação dinâmica proposta por Rambaut e colaboradores (Figura 2) (RAMBAUT et al., 2020).

GAL	Inicial (nome)	Idade	Sexo	Município	Data de coleta	N. interno	Reads	N.pb	Cobertura	Identidade NT	Identidade AA	Linhagem
211402001276	R.S.A.	59	M	CAMPOS DE JULIO	26/07/2021	5641	1,008,255	196	99.8%	99.9%	99.6%	P.1
210402007353	S.S.N.	61	M	PONTES E LACERDA	15/07/2021	2976	1,025,443	200	99.8%	99.9%	99.6%	P.1
210707000199	A.C.R.	65	M	SANTA CARMEM	18/03/2021	231713	921,392	199	99.8%	99.9%	99.7%	P.1
210707000134	M.P.A.	57	F	SANTA CARMEM	13/03/2021	212451	229,820	199	99.8%	99.9%	99.7%	P.1
210107041639	C.D.V.	73	F	CUIABÁ	14/08/2021	17912	474,993	198	99.8%	99.9%	99.6%	AY.99.2
210712001991	R.F.L.T.	49	F	TAPURAH	17/05/2021	321013	973,843	197	99.7%	99.9%	99.7%	P.1
210107032694	S.G.C.	31	F	SINOP	18/05/2021	324537	1,279,237	197	99.8%	99.9%	99.6%	P.1
210107040725	M.R.C.	47	F	CUIABÁ	08/08/2021	14277	978,524	199	99.6%	99.8%	99.7%	P.1.7
210804004974	R.I.R.	49	M	CAMPO NOVO DO PARECIS	05/06/2021	332468	521,200	199	99.8%	99.9%	99.7%	P.1
210407002934	A.P.	87	M	MIRASSOL D'OESTE	05/07/2021	352335	660,840	197	99.8%	99.9%	99.7%	P.1
210115000853	F.C.Z.	73	F	NOVA BRASILÂNDIA	20/08/2021	20317	510,890	199	99.8%	99.9%	99.7%	P.1
210406000857	J.P.B.	75	M	LAMBARI D'OESTE	13/08/2021	15393	867,464	194	99.8%	99.8%	99.6%	P.1
211105001958	A.A.S.	30	M	JUARA	11/05/2021	315163	764,221	194	99.8%	99.9%	99.7%	P.1
210804006422	P.P.A.	32	F	CAMPO NOVO DO PARECIS	20/07/2021	3477	725,733	197	99.8%	99.9%	99.6%	P.1.7
210810004477	N.F.S.	33	F	SAPEZAL	17/08/2021	8351	763,277	195	99.9%	99.9%	99.7%	P.1
210113003301	G.C.C.S.	52	M	CHAPADA DOS GUIMARÃES	15/08/2021	15367	561,160	190,000	99.8%	99.9%	99.7%	P.1.7
210305001004	L.R.	87	F	NOVA XAVANTINA	28/05/2021	324835	136,352	69,021	98.6%	99.8%	99.7%	P.1
210106022834	J.M.C.	44	F	VARZEA GRANDE	16/08/2021	15771	55,522	28,065	95.4%	99.8%	99.5%	P.1
210804006959	G.M.M.O.	24	M	CAMPO NOVO DO PARECIS	15/08/2021	18025	442,410	234,545	99.6%	99.8%	99.8%	P.1
210210001671	S.F.F.	54	F	JACIARA	14/05/2021	319540	196,101	99,228	98.9%	99.8%	99.7%	P.1

210903001907	J.I.M.	53	M	NOBRES	19/05/2021	322776	80,883	42,242	98.5%	99.7%	99.6%	P.1
210115000840	J.F.S.	75	M	NOVA BRASILÂNDIA	18/08/2021	18220	186,058	93,618	98.5%	99.8%	99.7%	P.1
210107038025	J.P.V.S.	44	M	MATUPÁ	10/07/2021	358109	341,251	177,450	99.3%	99.9%	99.8%	P.1
210707000417	E.M.D.	58	M	SANTA CARMEM	16/04/2021	277169	263,518	139,838	99.3%	99.8%	99.7%	P.1
210107039008	C.G.F.	52	M	MATUPÁ	21/07/2021	5674	18,202	8,822	89,80%	99.7%	99.2%	P.1
210802000670	S.L.V.S.	47	F	ARENAPOLIS	13/06/2021	335758	128,380	69,580	98.7%	99.8%	99.7%	P.1
211309002817	J.G.V.	65	M	ÁGUA BOA	21/05/2021	321223	227,013	120,398	99.2%	99.8%	99.7%	P.1.7
210210001691	S.M.R.	59	F	JACIARA	17/05/2021	320889	520,024	275,414	99.6%	99.8%	99.8%	P.1
210107039603	S.E.R.F.	58	F	CUIABÁ	28/07/2021	8762	300,024	147,654	98.8%	99.8%	99.7%	P.1
210107039585	G.C.M.S.	15	F	NOVA SÃO JOAQUIM	23/07/2021	8431	323,052	156,386	98.7%	99.8%	99.7%	P.1.7
210708005571	C.L.S.	58	M	SANTA RITA DO TRIVEATO	23/06/2021	252355	435,112	218,968	99.5%	99.8%	99.8%	P.1
210707000254	R.T.R.	62	F	SANTA CARMEM	24/03/2021	242321	515,659	272,073	99.5%	99.8%	99.7%	P.1

Tabela 1: Informações sobre as amostras sequenciadas e as respectivas linhagens identificadas do vírus SARS-CoV-2.

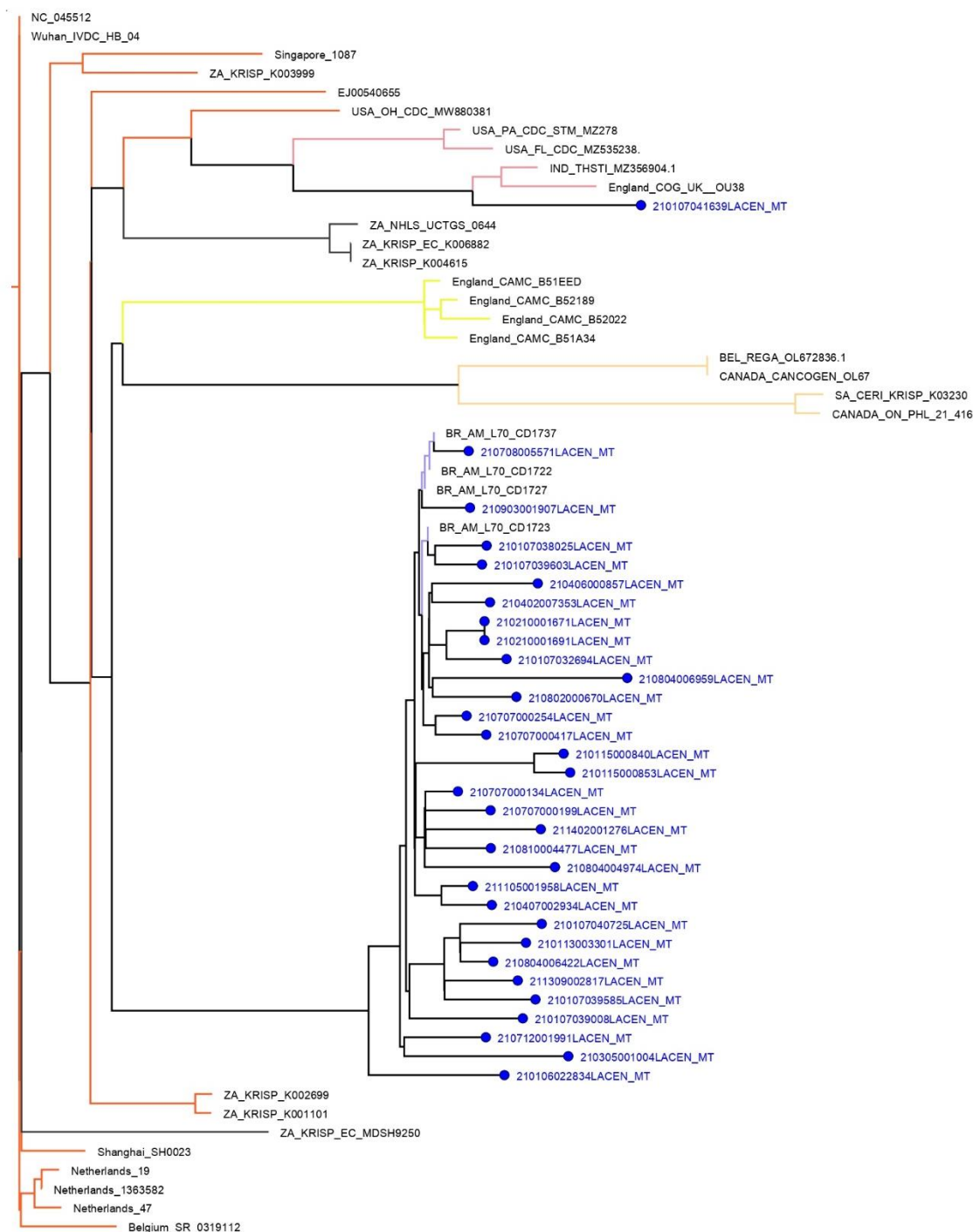


Figura 2: Fillogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando sequências genômicas isoladas no Mato Grosso (em azul) e sequências de referência presentes no banco de



dados da ferramenta Genome Detective- Coronavir Typing Tool, disponível online (CLEEMPUT, et al., 2020).

Foi identificado a co-circulação de 03 linhagens diferentes do SARS-CoV-2 no Estado de Mato Grosso ao longo do tempo e provavelmente são relacionadas a inúmeros eventos de importações e tipagem viral, concomitantes ao elevado número de infecções registrados no Estado.

A VOC gamma ou P.1 e suas sublinhagens correspondem a cerca de 97% dos casos que variam de março a agosto de 2021 e tem sido responsável pela maioria dos casos em Mato Grosso (Figura 3). Vinte e seis casos (81%) são P.1 e apresentam na maioria dos genomas analisados as seguintes mutações na proteína S: L18F (21614C> T), T20N (21621C> A), P26S (21638C> T), D138Y (21974G> T), R190S (22132G> T), K417T (22812A> C), E484K (23012G> A), N501Y (23063A> T), D614G (23403A> G), H655Y (23525C> T), T1027I (24642C> T), V1176F (25088G> T). Cinco casos (16%) são referentes a sublinhagem P.1.7, rotineiramente circulante no Brasil, apresentando as seguintes mutações na proteína S: L18F (21614C> T), T20N (21621C> A), P26S (21638C> T), D138Y (21974G> T), R190S (22132G> T), K417T (22812A> C), E484K (23012G> A), N501Y (23063A> T), D614G (23403A> G), H655Y (23525C> T), P681H (23604C> A), T1027I (24642C> T), V1176F (25088G> T).

Uma das sublinhagens da VOC delta ou B.1.617.2, a AY.99.2 foi identificada em um paciente no mês de agosto em Cuiabá, correspondendo a 3% dos casos. Conforme análise molecular, apresenta as seguintes mutações na proteína S: T19R (21618C>G), G142D(21987G>A), E156G(22029_22034delAGTTCA), F157_R158del (22029_22034delAGTTCA), L452R (22917T> G), T478K (22995C> A), F157_R158del (22029_22034delAGTTCA), L452R (22917T> G), T478K (22995C> A), D614681G (23604681G> A), D614681G).



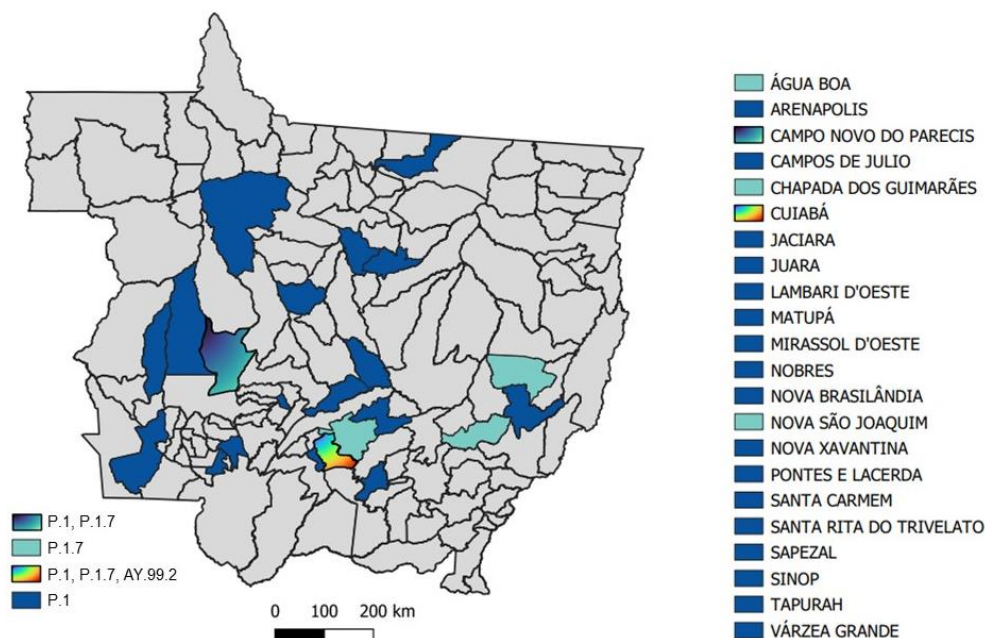


Figura 3: Mapa do Estado de Mato Grosso destacando a predominância da circulação da variante P.1 na maioria dos municípios amostrados e a presença de três variantes (P.1, P.1.7 e AY.99.2) em Cuiabá e duas variantes (P.1, P.1.7) em Campo Novo do Parecis.

Os dados demonstrados neste relatório sugerem que a mobilidade humana aliada a falta de distanciamento social e medidas restritivas são fatores contribuintes para a dispersão do SARS-CoV-2 em Mato Grosso. O sequenciamento do genoma é crucial para entender o percurso da transmissão e sua evolução ao longo do tempo. Ao desvendar o histórico do SARS-CoV-2, autoridades e pesquisadores podem adotar medidas adequadas para tentar conter sua disseminação, além de realizar inferências filogenéticas mais detalhadas sobre a dispersão do vírus no Estado.

REFERÊNCIAS

Cleemput, S. et al. "Genome Detective Coronavirus Typing Tool for rapid identification and characterization of novel coronavirus genomes." *Bioinformatics*, 2020.



Rambaut, A. et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. Nat Microbiol. 2020 Nov;5(11):1403-1407. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5. Epub 2020 Jul 15. PMID: 32669681.