



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 23 genomas do SARS-CoV-2, provenientes de pacientes com sintomas de infecção e diagnóstico positivo para COVID-19, referentes a 16 municípios, sendo, Barra do Garças (1), Cáceres (3), Campo Novo do Parecis (2), Campo Verde (1), Campos de Júlio (1), Cuiabá (3), Dom Aquino (1), Guarantã do Norte (3), Itaúba (1), Matupá (1), Nova Brasilândia (1), Peixoto de Azevedo (1), Santa Carmem (1), Santa Rita do Trivelato (1), Santo Afonso (1) e Santo Antônio do Leverger (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.

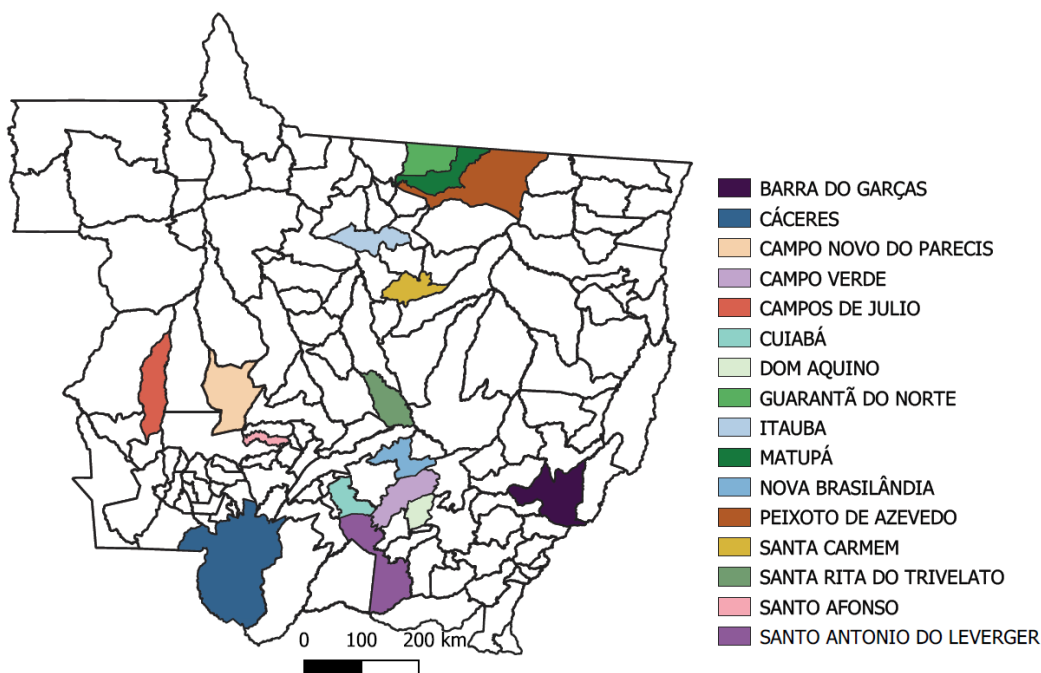


Figura 1: Mapa do Estado de Mato Grosso, destacando os municípios onde foram obtidas e caracterizadas as novas sequências genômicas do SARS-CoV-2.

Os genomas foram sequenciados utilizando a tecnologia desenvolvida pela Thermo Fisher Scientific (Ion Genestudio S5 Plus), apresentando em sua grande maioria cobertura entre 33% a 99.8% do genoma total (Tabela 1).

As amostras selecionadas apresentaram valores de CT (*cycle threshold*) que variaram entre 16 e 30.

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	Cobertura	Identidade (AA)	Identidade (NT)	Linhagem
210804004915	E.C.G.A.	42	M	Campo Novo do Parecis	27/05/2021	330632	2,065,860	99.7%	99.8%	99.8%	P.1
210107040823	M.D.S.	83	F	Cuiabá	04/08/2021	14218	1,541,495	99.6%	99.8%	99.8%	P.1
210107037776	N.T.R.B.	55	F	Cuiabá	08/07/2021	356482	896,827	99.5%	99.8%	99.8%	P.1
210107049843	M.P.S.	39	M	Cuiabá	06/12/2021	40995	229,849	83%	98.9%	99.8%	AY.99.2
210210001899	C.G.O.C.	49	F	Dom Aquino	31/05/2021	333794	610,633	98.8%	99.8%	99.9%	P.1
210711000086	J.F.S.N.	35	F	Santa Rita do Trivelato	07/03/2021	208223	2,143,508	99.8%	99.8%	99.9%	P.1
211502001127	A.R.S.	58	F	Itaúba	30/06/2021	353036	3,110,232	99.8%	99.8%	99.9%	P.1
210707000118	L.J.	73	M	Santa Carmem	26/02/2021	209508	117,531	94.7%	99.5%	99.9%	P.1
211402001297	I.R.F.	53	F	Campos de Júlio	22/07/2021	7653	357,76	97.2%	99.6%	99.8%	P.1
210107041211	E.B.S.S.	12	F	Campo Verde	08/08/2021	16035	2,506,368	99.8%	99.8%	99.8%	P.1.7
211202002375	L.L.	67	M	Guarantã do Norte	03/12/2021	41303	2,849,856	99.8%	99.7%	99.8%	AY.99.2
210402009808	M.V.R.	25	F	Cáceres	08/12/2021	41273	1,137,803	99.7%	99.8%	99.9%	P.1
211202002383	C.A.R.M.	26	F	Guarantã do Norte	06/12/2021	41291	396,832	99.7%	99.7%	99.9%	AY.25.1
210110001319	V.M.S.	55	M	Santo Antônio do Leverger	06/05/2021	313177	2,992,031	99.8%	99.7%	99.8%	AY.99.2
210106010093	J.S.S.	65	M	Santo Afonso	02/04/2021	275924	90,422	87.1%	99%	99.9%	AY.98.1
211204001411	V.E.M.	49	M	Peixoto de Azevedo	06/04/2021	282427	1,558,528	99.7%	99.7%	99.8%	AY.116
210115000685	L.P.G.	74	M	Nova Brasilândia	25/06/2021	349766	2,378,535	99.8%	99.7%	99.9%	AY.25.1
210311003794	E.L.C.	77	M	Barra do Garças	29/05/2021	332986	7,608	84.3%	99%	99.9%	AY.25.1
210402009822	A.R.S.	27	F	Cáceres	09/12/2021	41333	2,153,368	99.8%	99.7%	99.8%	AY.99.2

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

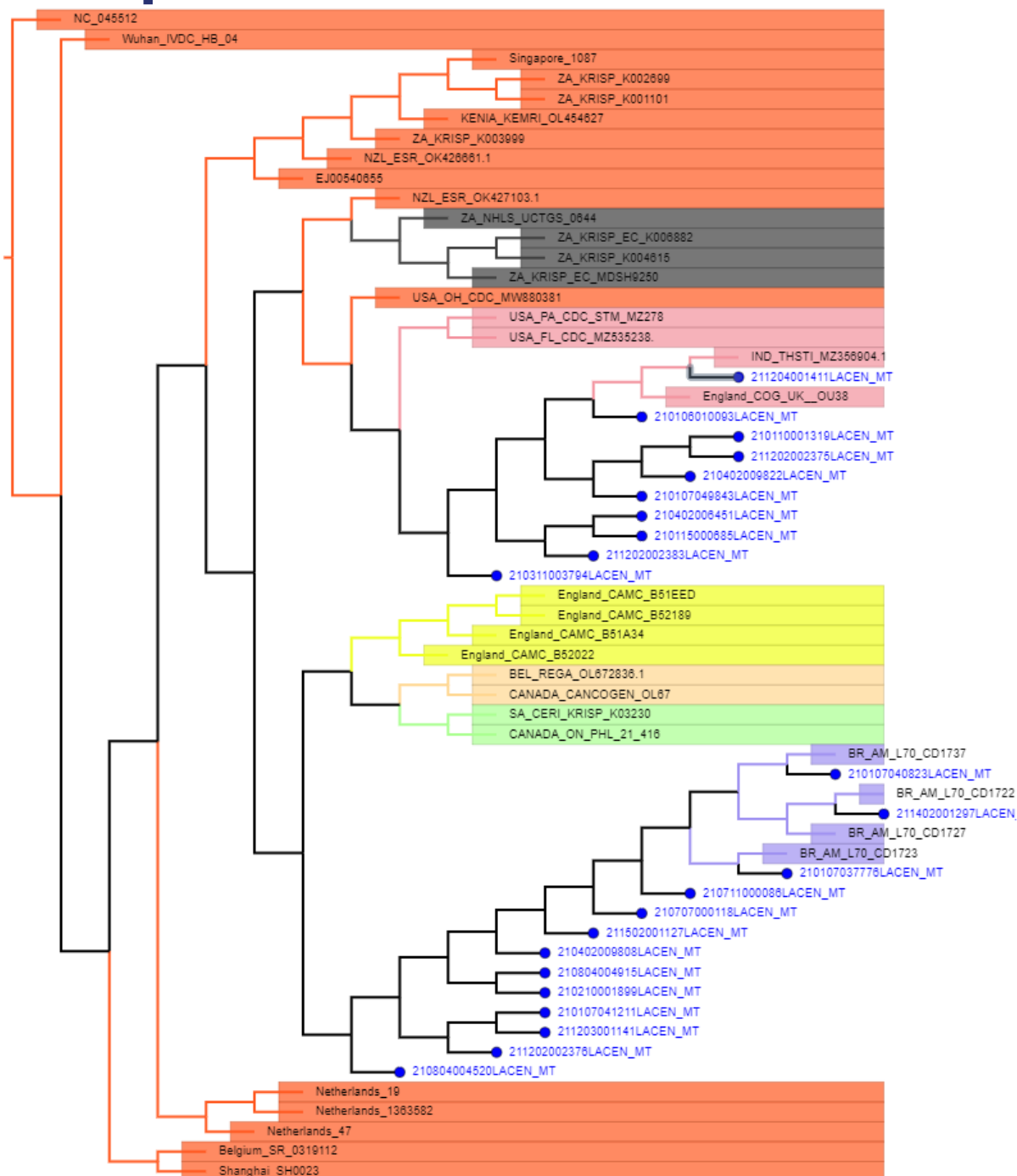


Figura 2: Filogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando sequências genômicas isoladas no Mato Grosso (em azul) e sequências de referência presentes no banco de dados da ferramenta Genome Detective- Coronavirns Typing Tool, disponível online (CLEEMPUT, et al., 2020).

No presente relatório foi identificado a co-circulação de 02 linhagens





diferentes (Gamma e Delta) do SARS-CoV-2 e suas respectivas sublinhagens; provavelmente 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 sua sublinhagem P.1.7 correspondem a cerca de 56.5% dos casos que variam de fevereiro a dezembro de 2021 (Figura 3). Em dez pacientes dos municípios de Cáceres, Campo Novo do Parecis, Campos de Júlio, Cuiabá, Dom Aquino, Itauba, Santa Carmem e Santa Rita do Trivelato foram identificados a variante 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). Três casos dos municípios de Campo Verde, Guarantã do Norte e Matupa 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), K417T (22812A>C), E583D (23311G>T), D614G (23403A>G), H655Y (23525C>T), P681H (23604C>A).

As sublinhagens AY.25.1, AY.99.2, AY.98.1 e AY.116 da VOC Delta ou B.1.617.2 correspondem a 43.5% das amostras analisadas, o que demonstra a variedade de mutações desta variante ao longo de 2021. A sublinhagem AY.25.1 foi identificada em quatro pacientes residentes dos municípios de Barra do Garças, Cáceres, Guarantã do Norte e Nova Brasilândia. A sublinhagem AY.99.2 foi detectada em quatro pacientes oriundos de quatro municípios, sendo: Cáceres, Cuiabá, Guarantã do Norte e Santo Antônio do Leverger. A sublinhagem AY.98.1 foi identificada em um paciente de Santo Afonso. Por fim, a sublinhagem AY.116 foi detectada em um paciente de Peixoto de Azevedo. Todas as sublinhagens identificadas apresentam mutações na proteína S características pelo aumento da transmissibilidade, o que corrobora com o aumento da dispersão e circulação da variante Delta no Estado.



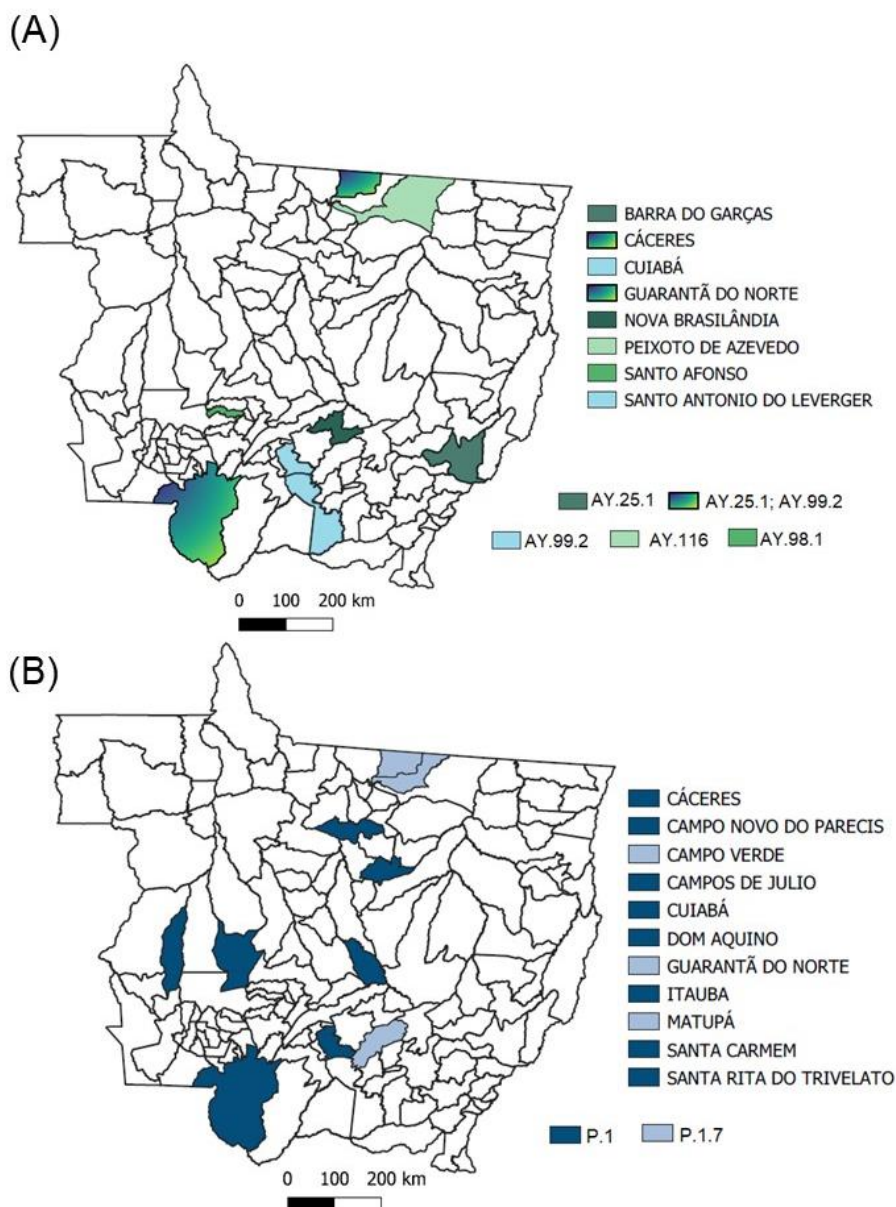


Figura 3: Mapa do Estado de Mato Grosso destacando a predominância das variantes identificadas. (A) Demonstração da circulação e co-circulação das sublinhagens da variante Delta (B.1.617.2) AY.25.1, AY.99.2, AY.116 e AY.98.1 em Barra do Garças, Cáceres, Cuiabá, Guarantã do Norte, Nova Brasilândia, Peixoto de Azevedo, Santo Afonso e Santo Antonio do Leverger. (B) Demonstração da circulação e co- circulação da variante Gamma (P.1) e sua sublinhagem P.1.7 em Cáceres, Campo Novo do Parecis, Campo Verde, Cuiabá, Dom Aquino, Guarantã do Norte, Itauba, Matupá, Santa Carmem e Santa Rita do Trivelato.



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.

