

**RELATÓRIO REFERENTE AO 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 RNA de fita simples (+ ssRNA), polaridade positiva e não segmentada, sentido positivo, 5'-cap, 3'-poliadenilado e tamanho surpreendentemente grande, variando de 27 a 32 quilobases (2), pertencem à família *Coronaviridae*, gênero *betacoronavirus*, sendo designado como SARS-CoV-2, vírus que está relacionado à síndrome respiratória aguda (SRAG) e com alto teor de dispersão (1). O genoma do SARS-CoV-2 codifica proteínas não estruturais e quatro proteínas estruturais como: espícula [S], envelope [E], membrana [M], nucleocapsídeo [N] e várias proteínas acessórias (3, 4).

O método de sequenciamento genético permite realizar a leitura dos genomas virais com o objetivo de identificar novos patógenos e aprimorar a compreensão das origens e da transmissão de vírus emergentes. É válido ressaltar que um dos propósitos do sequenciamento genético é acompanhar, monitorar e identificar a circulação das linhagens e sublinhagens de SARS-CoV-2 em todo Estado, tendo em vista que o vírus continua a sofrer mutações que diferem da estirpe original de Wuhan. 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.

Para uma compreensão melhor sobre o vírus que causa a COVID-19 circulante no Estado de Mato Grosso, durante o período de 11 a 17 de Janeiro de 2023, a equipe do LACEN-MT realizou o sequenciamento de 28 genomas, provenientes de pacientes com sintomas da doença, cujo diagnóstico molecular resultou em positivo para o SARS-CoV-2, com valores de CT (*cycle threshold*) que variaram entre 15 e 33.

O sequenciamento abrangeu 7 municípios do Estado de Mato Grosso sendo eles: Cuiabá (17), Lucas do Rio Verde (1), Tangara da Serra (5), Nossa Senhora do Livramento (1), Planalto da Serra (3) e União do Sul (1) (**Figura 1**).

Os genomas foram sequenciados utilizando a tecnologia desenvolvida pela Thermo Fisher Scientific (Ion Genestudio S5 Plus), apresentando valores de cobertura superior a 97% do genoma total (**Tabela 1**).

As sequências genômicas obtidas foram analisadas utilizando o software *Genome*



Detective - Coronavirus Typing Tool, disponível online em:
(<https://www.genomedetective.com/app/typingtool/virus/>) (5).

A avaliação da linhagem foi realizada utilizando duas ferramentas *Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak LINEages* disponível em:
(<https://github.com/hCoV-2019/pangolin>) e Nextclade (<https://clades.nextstrain.org/>) seguindo a recente classificação dinâmica proposta por Rambaut e colaboradores (**Figura 2**) (7).

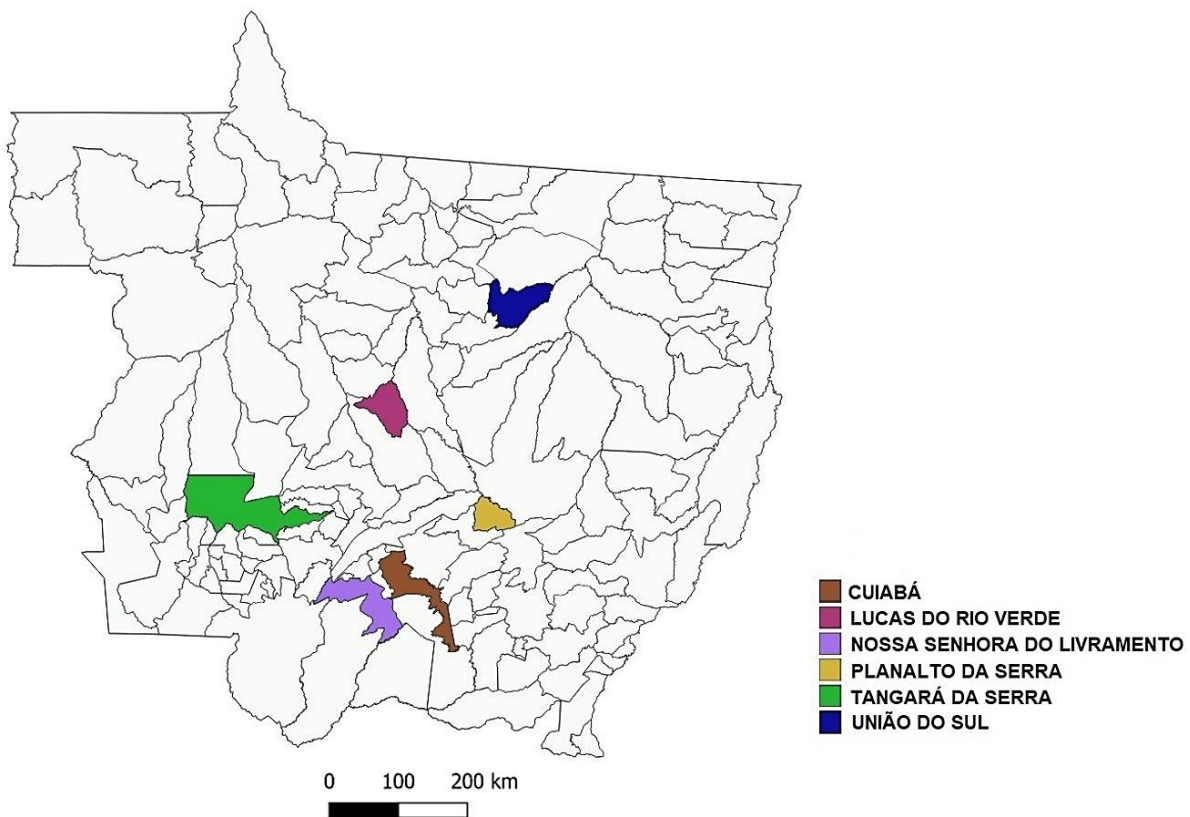


Figura 1: Mapa do Estado de Mato Grosso, destacando os municípios onde foram obtidas e caracterizadas as novas sequências genômicas do SARS-CoV-2.

Barcode	N° do barcode	Assignment	Contigs	Reads	Coverage	Depth of coverage	Identity NT	Identity AA	Lineages	I/D/M/F	ID_Sequencia	ID_Amostra	Requisição_GAL_Sequenciamento	LACEN	CT (N, ORF,S)
IonCode_0102	BC02	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	17	105137	97.1	445.7	99.8	99.6	BQ.1.1	0/33	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497671/2022	510497671	230101000336	LACEN-MT	26,29,29
IonCode_0103	BC03	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	5	1812283	99.3	10033.6	99.8	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497672/2022	510497672	230101000337	LACEN-MT	27,29,27
IonCode_0104	BC04	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	5	717700	99.2	3176.6	99.8	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497673/2022	510497673	230101000338	LACEN-MT	26,28,29
IonCode_0105	BC05	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	16	188604	97.6	730.7	99.8	99.6	BQ.1.1	0/33	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497674/2022	510497674	230101000339	LACEN-MT	26,29,29
IonCode_0106	BC06	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	2	741128	99.6	3290.7	99.8	99.6	BQ.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497675/2022	510497675	230101000340	LACEN-MT	26,28,28
IonCode_0109	BC09	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1692755	99.7	10699.2	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497678/2022	510497678	230101000343	LACEN-MT	18,21,22
IonCode_0110	BC10	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1433745	99.7	9058.2	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497679/2022	510497679	230101000344	LACEN-MT	17,19,21
IonCode_0111	BC11	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1527315	99.7	9595.1	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497682/2022	510497682	230101000345	LACEN-MT	18,21,23
IonCode_0112	BC12	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1400730	99.7	8707.2	99.7	99.6	DL.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497683/2022	510497683	230101000346	LACEN-MT	17,19,21
IonCode_0113	BC13	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1404664	99.7	9068.4	99.8	99.6	BA.5.3.1	0/68	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497684/2022	510497684	230101000347	LACEN-MT	16,18,20
IonCode_0114	BC14	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1472012	99.7	9303.4	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497685/2023	510497685	230101000348	LACEN-MT	14,19,20
IonCode_0115	BC15	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1562340	99.8	8545.7	99.7	99.6	XBB.1	0/53	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497687/2023	510497687	230101000349	LACEN-MT	18,20,21
IonCode_0116	BC16	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	13	22852	97.7	102.7	99.8	99.7	BQ.1.19	0/51	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497688/2022	510497688	230101000350	LACEN-MT	18,20,24
IonCode_0117	BC17	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1637576	99.7	10068.4	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497689/2022	510497689	230101000351	LACEN-MT	18,20,24
IonCode_0118	BC18	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	2	1285566	99.7	7342.1	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497690/2022	510497690	230101000352	LACEN-MT	16,20,21
IonCode_0119	BC19	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1653175	99.7	10615.4	99.7	99.6	DJ.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497691/2022	510497691	230101000353	LACEN-MT	17,21,22
IonCode_0120	BC20	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1361159	99.7	8827.4	99.8	99.6	BQ.1.19	0/60	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497692/2022	510497692	230101000354	LACEN-MT	18,21,22
IonCode_0121	BC21	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	633880	99.8	2915.2	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497693/2022	510497693	230101000355	LACEN-MT	18,22,24
IonCode_0122	BC22	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	916919	99.8	4462.7	99.7	99.5	XBB.1	0/56	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497694/2022	510497694	230101000356	LACEN-MT	18,20,21
IonCode_0123	BC23	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1431694	99.7	8803.8	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497695/2022	510497695	230101000357	LACEN-MT	18,21,22
IonCode_0124	BC24	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	2	1585794	99.6	9759.9	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497696/2022	510497696	230101000358	LACEN-MT	17,20,21
IonCode_0125	BC25	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1150687	99.8	6645.1	99.7	99.5	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497697/2022	510497697	230101000359	LACEN-MT	15,16,20
IonCode_0126	BC26	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	2	793843	99.5	3474.3	99.8	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497698/2022	510497698	230101000360	LACEN-MT	17,17,21
IonCode_0127	BC27	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	2	1137350	99.7	6154.7	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497699/2022	510497699	230101000361	LACEN-MT	17,19,20
IonCode_0128	BC28	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	2	1269394	99.7	7638	99.8	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497700/2022	510497700	230101000362	LACEN-MT	17,19,20
IonCode_0129	BC29	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	989891	99.6	6294.2	99.8	99.6	BQ.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497701/2022	510497701	230101000363	LACEN-MT	15,18,19
IonCode_0130	BC30	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1229836	99.8	7640.8	99.8	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497702/2022	510497702	230101000364	LACEN-MT	17,20,21
IonCode_0131	BC31	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	1	1126050	99.7	7074.9	99.7	99.6	BQ.1.1	0/59	hCoV-19/Brazil/MT-LACENMT-510497703/2022	510497703	230101000365	LACEN-MT	17,19,21

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

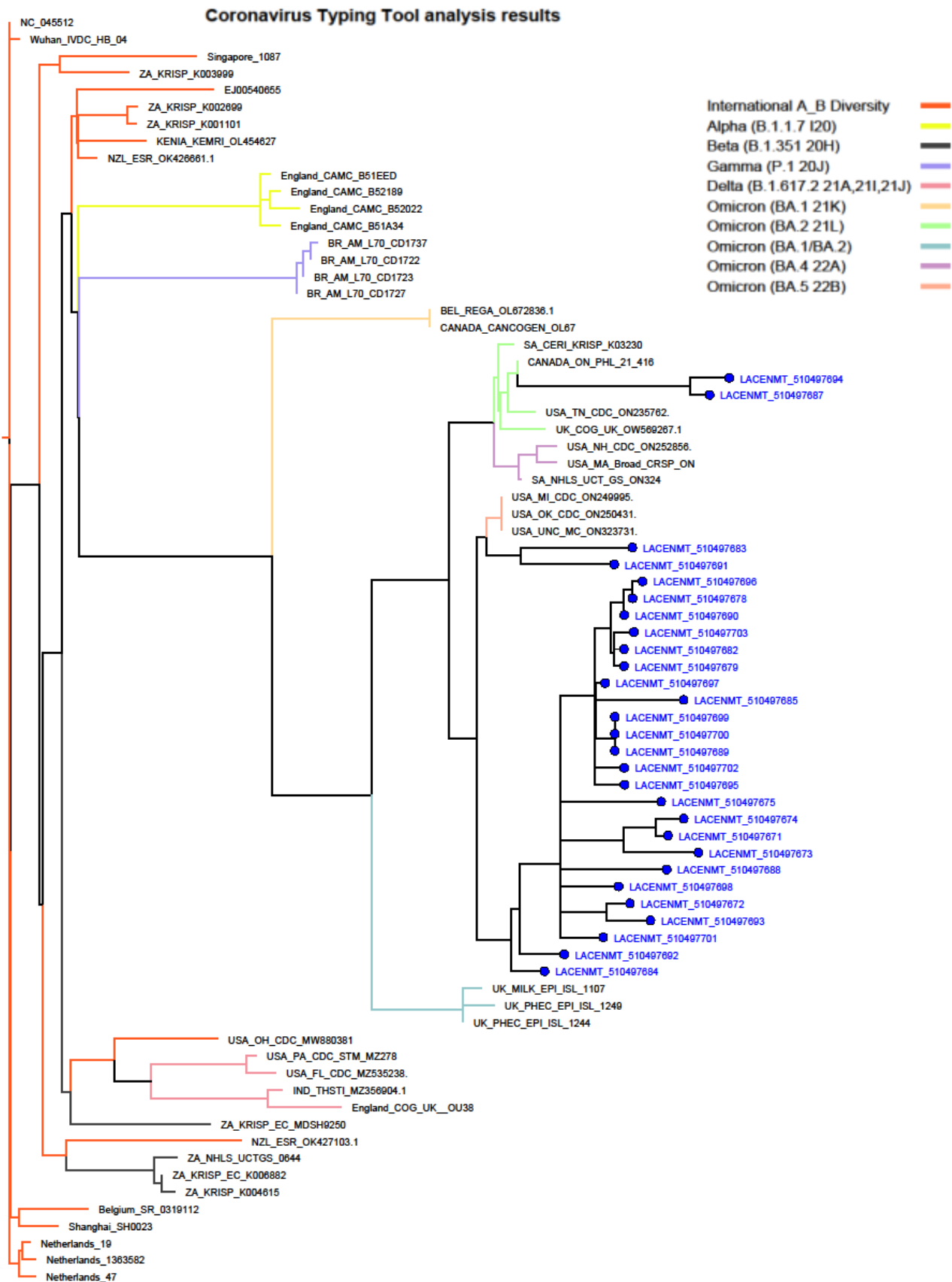


Figura 2: Filogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando as sequências genômicas isoladas em Mato Grosso (em azul) e sequências de referência presentes no banco de dados da ferramenta *Genome Detective-Coronavirs TypingTool*, disponível online (CLEEMPUT,et al., 2020).

Foi identificada em 100% das amostras sequenciadas apenas a VOC Ômicron, provavelmente relacionado a alta transmissibilidade desta variante, inúmeros eventos de importações e tipagem viral, concomitantes ao elevado número de infecções registrados no Estado além da ausência de medidas preventivas para a dispersão do vírus. A sublinhagem em maior evidência foi a BQ.1.1 (67,86%) seguida pela BQ.1 (7,14%), BQ.1.19 (7,14%), XBB.1 (7,14%), BA.5.3.1 (3,57%) DJ.1 (3,57%) e DL.1 (3,57%)) **(Figura 3).**

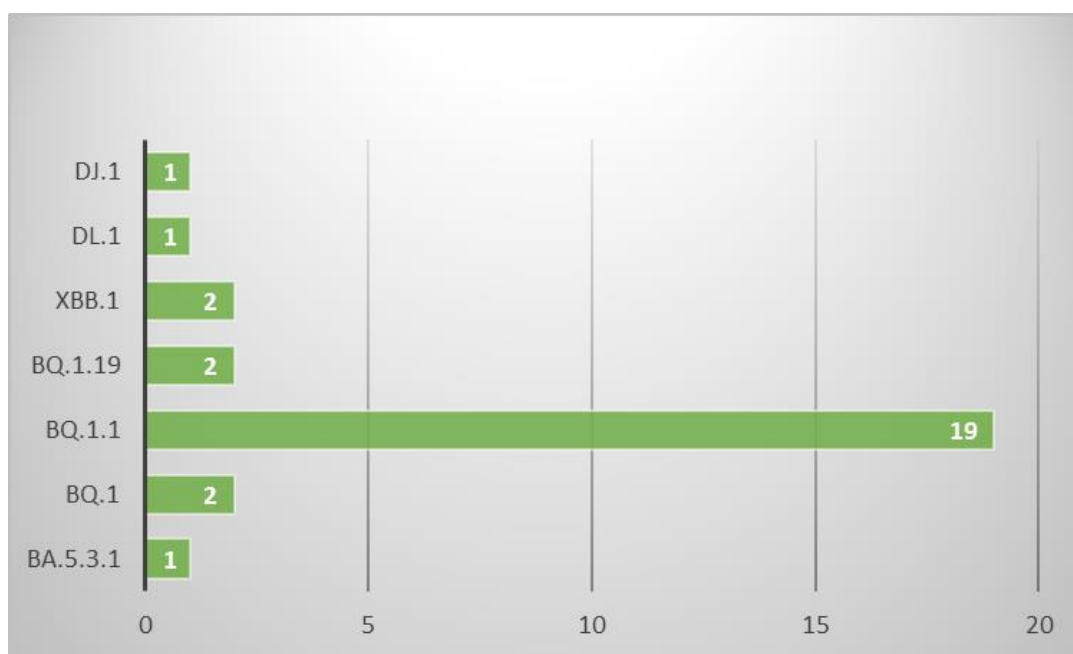
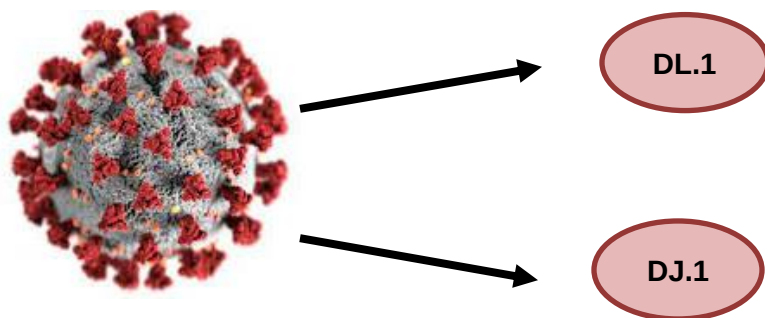


Figura 3: Quantidade das sublinhagens obtidas das sequências genômicas do SARS-CoV-2.



Duas novas sublinhagens Ômicron foram identificadas no estado de Mato Grosso a DL.1 e DJ.1 que são classificadas como variantes VOC.

Essas sublinhagens são decorrentes de mutações as quais estão citadas abaixo:

DL.1, VOC, OMICRON			
Defining Mutations:			
NSP1 S135R	3CLPRO H246Y	S K444N	S F486V
ORF10 L37F			

DJ.1, VOC, OMICRON			
Defining Mutations:			
NSP1 S135R	S K444N	S F486V	ORF7B H42Y
ORF10 L37F			

Fonte: SARS-CoV-2 Variants Overview- NCBI

O sequenciamento genético realizado pelo LACEN-MT aponta que as novas linhagens circulantes da VOC Ômicron continuam a ganhar espaço no Estado de Mato Grosso, favorecendo a ocorrência de casos de COVID-19 em pessoas que já se infectaram pela doença, inclusive os imunizados.

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. Por fim, ratificamos que a mobilidade humana representa um fator crucial para a dispersão do SARS-CoV2, portanto,

medidas preventivas continuam sendo essenciais para minimizar a circulação deste patógeno no Estado de Mato Grosso.

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- <http://www.rbac.org.br/artigos/diagnostico-laboratorial-do-sars-cov-2-por-transcricao-reversa-seguida-de-reacao-em-cadeia-da-polimerase-em-tempo-real-rt-pcr/> Menezes et al; Diagnóstico laboratorial do SARS-CoV-2 por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR).
- 4- 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.
- 5- Cleemput, S. et al. "Genome Detective Coronavirus Typing Tool for rapid identification and characterization of novel coronavirus genomes." *Bioinformatics*, 2020.
- 6- Michelon, C.M. Principais variantes do SARS-CoV-2 notificadas no Brasil; Main SARS-CoV-2 variants notified in Brazil. Doutora, Departamento de Análises Clínicas – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC, Brasil. DOI: 10.21877/2448-3877.202100961.
- 7- 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.

Responsáveis técnicos

Elaine Cristina de Oliveira - Diretora do LACEN-MT
Júlia Deffune Profeta Cidin Almeida
Luana Barbosa da Silva
Luiz Takao Watanabe
Stephanni Figueiredo da Silva