



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 25 de outubro de 2021 a 08 de novembro 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 23 municípios, sendo, Alto Araguaia (1), Alto Paraguai (1), Araputanga (1), Barra do Bugres (2), Barra do Garças (1), Campos de Júlio (1), Colíder (1), Conquista d'Oeste (1), Cuiabá (2), Diamantino (4), Itauba (1), Nortelândia (1), Nova Canaã do Norte (1), Nova Guarita (1), Nova Maringá (2), Nova Santa Helena (4), Porto Esperidião (1), Porto dos Gaúchos (1), Rondonópolis (1), Rosário Oeste (1), Santo Antônio do Leverger (1), São Félix do Araguaia (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.

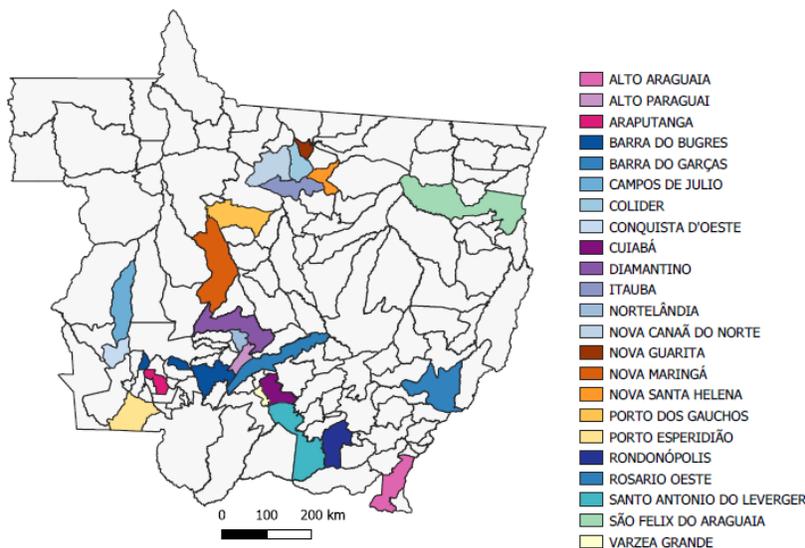


Figura 1: Mapa do Estado de Mato Grosso, destacando os municípios onde foram obtidas e caracterizadas as novas sequências genômicas do SARS-CoV-2.

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

As amostras selecionadas apresentaram valores de CT (cycle threshold) que variaram entre 14 e 33.

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	Linhagem
210220000493	C.P.S.	37	F	Rondonópolis	12/05/2021	317605	353,198	99.7%	99.8%	99.8%	P.1
210803000973	E.F.P.	42	F	Barra do Bugres	14/05/2021	319389	229,819	99.7%	99.9%	99.8%	P.1
210106015791	A.C.A.C.	39	F	Várzea Grande	12/05/2021	317750	360,529	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210905000845	R.F.S.	56	F	Nova Maringá	20/05/2021	325040	2,135,960	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
211504001284	W.R.	50	M	Nova Canaã do Norte	24/05/2021	327045	519,610	99.8%	99.8%	99.8%	P.1
211506001084	C.B.S.	36	F	Nova Santa Helena	20/05/2021	329283	1,590,616	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210110001608	D.S.R.	57	M	Santo Antônio do Leverger	01/06/2021	333639	1,744,753	99.8%	99.8%	99.8%	P.1
200101004803	G.G.F.	60	M	Cuiabá	01/12/2020	120946	1,608,076	99.7%	99.9%	99.9%	P.2
211506001071	J.M.S.	47	M	Nova Santa Helena	17/05/2021	321087	1,230,182	99.9%	99.9%	99.8%	P.1
210908002573	M.M.L.O.	64	F	Diamantino	10/05/2021	315981	1,014,574	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210904000576	K.C.P.P.	53	F	Nortelândia	20/05/2021	323917	893,254	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210902000597	M.C.F.	47	M	Alto Paraguai	04/05/2021	311246	1,278,884	99.9%	99.8%	99.8%	P.1
211506001144	R.O.S.	49	F	Nova Santa Helena	27/05/2021	330846	1,278,419	99.8%	99.8%	99.8%	P.1
210107033000	A.A.S.	36	M	São Felix do Araguaia	23/05/2021	326628	1,213,941	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
211506001129	C.A.M.J.	52	F	Nova Santa Helena	24/05/2021	327001	1,140,904	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
211502000964	H.F.R.	57	M	Itauba	06/05/2021	313520	1,172,501	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210906001456	R.D.A.	54	M	Rosário Oeste	24/05/2021	326693	114,470	99.7%	99.9%	99.8%	P.1
211507001729	M.R.L.S.	58	F	Colíder	22/04/2021	304634	170,274	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210905001015	A.J.A.	66	M	Nova Maringá	24/06/2021	349583	1,293,486	99.8%	99.9%	99.8%	P.1

210101007323	J.S.M.	41	M	Cuiabá	16/09/2021		1,477,051	99.8%	99.9%	99.7%	AY.99.2
210311003429	L.M.A.	45	F	Barra do Garças	15/05/2021	320761	1,431,993	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210202001221	W.R.S.	39	M	Alto Araguaí	16/06/2021	344589	1,353,520	99.8%	99.8%	99.8%	P.1
210408000826	J.P.M.	52	M	Porto Esperidião	25/05/2021	329216	1,019,784	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
211404000429	I.G.C.	56	M	Conquista d'Oeste	10/05/2021	315909	1,146,574	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
211505000761	J.B.S.	56	M	Nova Guarita	24/05/2021	327050	170,376	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210908002503	I.N.A.	59	M	Diamantino	30/04/2021	308965	451,250	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210908002448	R.S.A.	61	F	Diamantino	28/04/2021	307328	1,335,023	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210803000967	V.G.L.O.	62	F	Barra do Bugres	12/05/2021	317473	1,251,535	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210107031109	J.S.P.	67	F	Porto dos Gaúchos	06/05/2021	313031	1,154,232	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
211402001150	N.C.J.	51	F	Campos de Júlio	23/06/2021	349188	4,856	98.9%	99.9%	99.9%	P.1
210908002639	G.M.S.	32	F	Diamantino	21/05/2021	325761	1,449,423	99.8%	99.9%	99.8%	P.1
210413001319	M.S.S.F.	59	F	Araputanga	03/05/2021	310713	1,470,588	99.8%	99.9%	99.8%	P.1

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

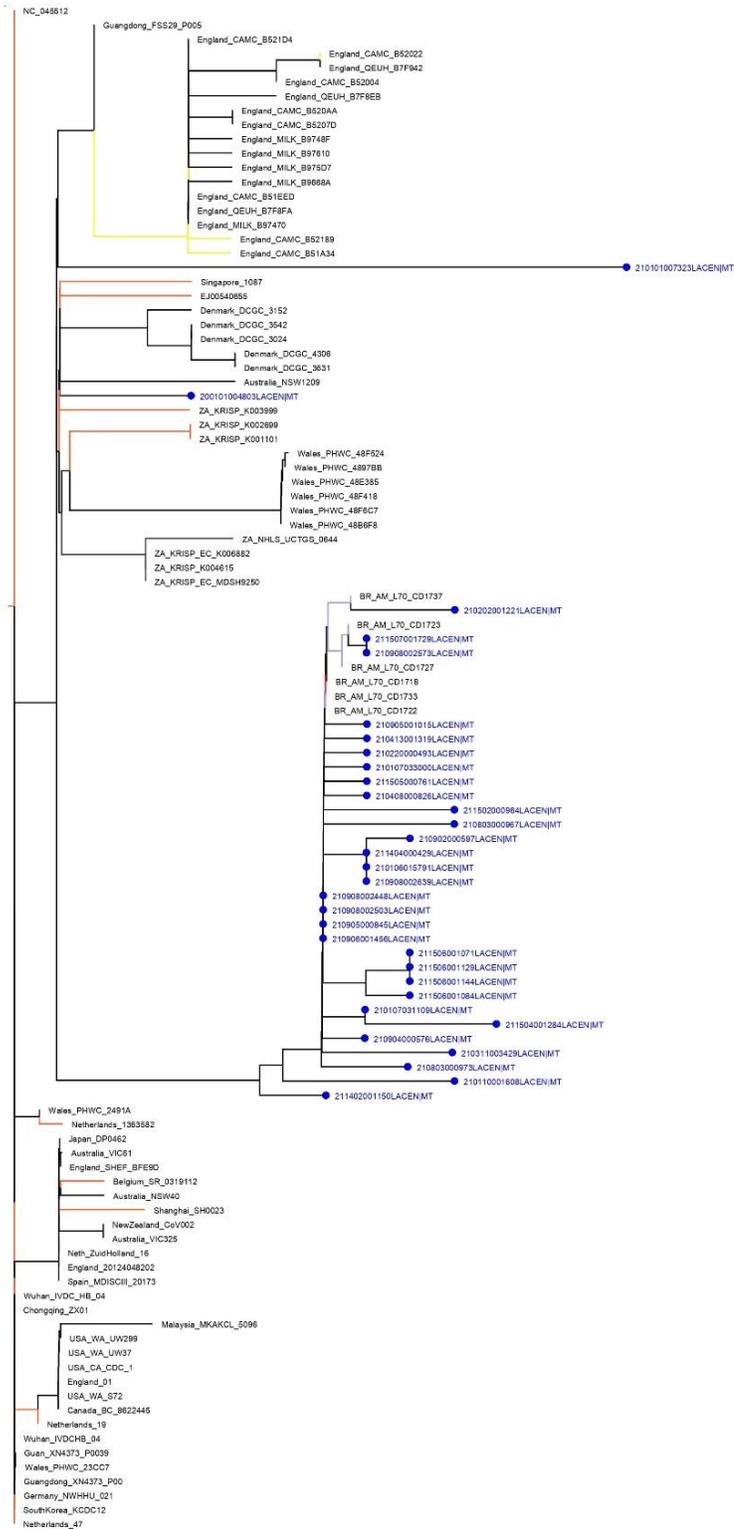


Figura 2: Filogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando seqüências genômicas isoladas no Mato Grosso (em azul) e seqüências de referência presentes no banco de



dados da ferramenta Genome Detective- Coronavirs Typing Tool, disponível online (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 (RAMBAUT 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, identificada preliminarmente em Manaus está presente em cerca de 94% dos casos que variam de abril a junho de 2021 e tem sido responsável pela maior parte dos casos em Mato Grosso (Figura 2), apresentando na maioria dos genomas analisados as seguintes mutações na proteína S: N501Y(23063A>T), E484K (23012G>A), K417T(22812A>C), L18F (21614C>T), D138Y (21974G> T) , R190S (22132G> T), T1027I (24642C> T) , V1176F (25088G> T).

A variante P.2 (zeta) detectada inicialmente no Rio de Janeiro, foi identificada em 3% dos casos em um paciente residente de Cuiabá no mês de dezembro de 2020 e apresentou as mutações E484K (23012 G>A), D614G (23403 A>G) e V1176F (25088 G>T) na proteína S.

A VOC delta ou B.1.617.2 detectada em outubro de 2020 na Índia foi identificada em maio de 2021 em Cuiabá, desde já, mais de 07 amostras foram relacionados a essa variante, além de uma de suas sub-linhagens, a AY.5. No presente sequenciamento, identificamos a sub-linhagem AY.99.2 (3% dos casos) em um paciente de Cuiabá infectado em setembro. 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), D614G (23403A>G), P681R (23604C>G), D950N (24410G>A).

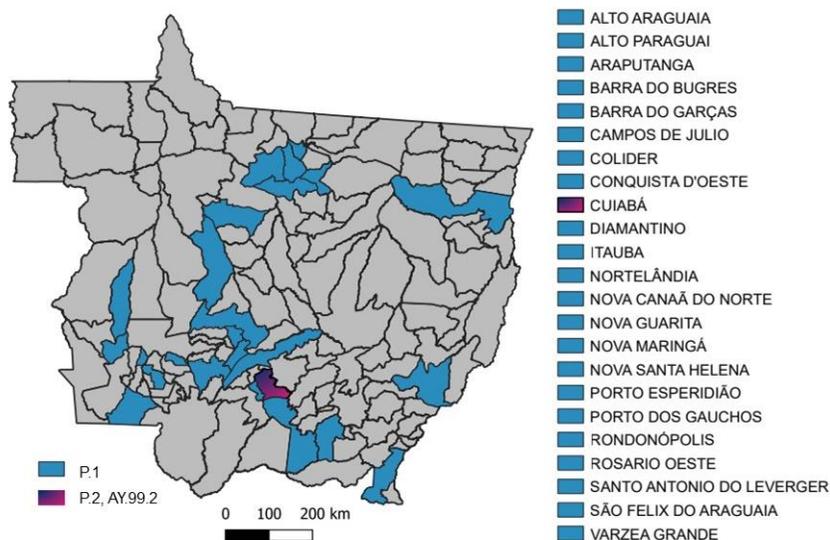


Figura 3: Mapa do Estado de Mato Grosso destacando a predominância da circulação da variante P.1 na maioria dos municípios amostrados e a presença de duas variantes (P.2 e AY.99.2) em Cuiabá.

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.