

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS
INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**

LÍVIA DE MELLO ALMEIDA MAZIERO

**VIGILÂNCIA GENÔMICA DA VARIANTE ÔMICRON EM MATO GROSSO DO
SUL**

Campo Grande - MS

2024

LÍVIA DE MELLO ALMEIDA MAZIERO

**VIGILÂNCIA GENÔMICA DA VARIANTE ÔMICRON EM MATO GROSSO DO
SUL**

Dissertação apresentada como exigência parcial à obtenção do grau de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Orientadora: Prof^a Dr^a Crhistinne Cavalheiro Maymone Gonçalves

Co-orientador: Dr^o Luiz Carlos Júnior Alcântara

Campo Grande - MS

2024

LÍVIA DE MELLO ALMEIDA MAZIERO

**VIGILÂNCIA GENÔMICA DA VARIANTE ÔMICRON EM MATO GROSSO DO
SUL**

Dissertação apresentada como exigência parcial à obtenção do grau de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Orientadora: Prof^a Dr^a Crhistine Cavalheiro Maymone Gonçalves

Co-orientador: Dr^o Luiz Carlos Júnior Alcântara

Campo Grande - MS, 30 de julho de 2024.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profa. Dra. Crhistine Cavalheiro Maymone Gonçalves UFMS/MS
Orientadora

Profa. Dra. Ana Lúcia Lyrio de Oliveira
Membro Interno PPGDIP-UFMS/MS

Profa. Dra. Mariana Trinidad Ribeiro da Costa Garcia Croda
Membro Externo UFMS

Prof. Dr. James Venturini Membro Interno PPGDIP-UFMS/MS

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, minha fonte de vida, de força e de amor todos os dias! Por me capacitar e ser meu refúgio em meio as lutas.

À minha família - fonte constante de inspiração, apoio e amor incondicionais. Em especial a minha querida filha, que trouxe luz e alegria aos momentos desafiadores, ao meu amado esposo cujo apoio e encorajamento foram fundamentais neste período. Aos meus pais que são incansáveis em me incentivar e amar.

Quero expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a conclusão desta etapa em minha vida. Todo apoio, auxílio e compreensão tornaram a conclusão dessa jornada, possível.

Às minhas amigas e parceiras de saúde pública que compartilharam suas experiências e insights valiosos, agradeço por doarem seus conhecimentos e por me inspirarem com suas vidas, em especial Graziinha, Karine e Lari.

Aos meus orientadores que com sabedoria acrescentaram no desenvolvimento desta dissertação. Suas contribuições e incentivos constantes foram fundamentais para a qualidade deste trabalho.

Por fim, agradeço pela alegria da conclusão dessa etapa que não é só minha mas de todos que acreditaram em mim e caminharam ao meu lado.

RESUMO

A vigilância genômica emergiu como uma ferramenta crucial no monitoramento e compreensão da dinâmica das variantes virais durante a pandemia COVID-19. Na região Centro-Oeste do Brasil, o estado do Mato Grosso do Sul tem enfrentado uma carga significativa da epidemia de SARS-CoV-2, com um total de 613.000 casos confirmados em junho de 2023. Em colaboração com o Laboratório Central de Saúde Pública na capital Campo Grande, realizamos um sequenciamento portátil do genoma completo de um total de 69 sequências genômicas obtidas de amostras positivas para SARS-CoV-2 via RT-qPCR e análise filogenética para investigar a circulação da variante Omicron na região. A pesquisa teve como objetivo descobrir o cenário genômico e fornecer percepções valiosas sobre a prevalência e os padrões de transmissão dessa variante altamente transmissível. Nossos resultados revelaram um aumento no número de casos na região durante 2022, seguido por um declínio gradual como resultado do impacto bem-sucedido do programa de vacinação, juntamente com a capacidade desta variante imprevisível e muito transmissível de afetar rapidamente a proporção da população suscetível. Os dados genômicos indicaram múltiplos eventos de introdução, sugerindo que a mobilidade humana desempenhou um papel diferencial na dinâmica de dispersão da variante pelo estado. Esses resultados enfatizam a importância da implementação de intervenções de saúde pública para mitigar a disseminação e destacam o papel poderoso do monitoramento genômico no rastreamento e descoberta rápida da circulação de cepas virais. Juntos, esses resultados ressaltam a importância da vigilância proativa, do rápido sequenciamento genômico e do compartilhamento de dados para facilitar respostas oportunas de saúde pública.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, variante Omicron, Mato Grosso do Sul, monitoramento genômico.

ABSTRACT

Genomic surveillance has emerged as a crucial tool in monitoring and understanding the dynamics of viral variants during the COVID-19 pandemic. In the Midwest region of Brazil, Mato Grosso do Sul has faced a significant burden from the SARS-CoV-2 epidemic, with a total of 613,000 confirmed cases as of June 2023. In collaboration with the Central Public Health Laboratory in the capital Campo Grande, we performed portable whole-genome sequencing of a total of 69 genomic sequences obtained from SARS-CoV-2-positive samples via RT-qPCR and phylogenetic analysis to investigate the circulation of SARS-CoV-2. Omicron variant in the region. The study aimed to uncover the genomic landscape and provide valuable insights into the prevalence and transmission patterns of this highly transmissible variant. Our findings revealed an increase in the number of cases within the region during 2022, followed by a gradual decline as a result of the successful impact of the vaccination program together with the capacity of this unpredictable and very transmissible variant to quickly affect the proportion of susceptible population. Genomic data indicated multiple introduction events, suggesting that human mobility played a differential role in the variant's dispersion dynamics throughout the state. These findings emphasize the significance of implementing public health interventions to mitigate further spread and highlight the powerful role of genomic monitoring in promptly tracking and uncovering the circulation of viral strains. Together those results underscore the importance of proactive surveillance, rapid genomic sequencing, and data sharing to facilitate timely public health responses.

Keywords: SARS-CoV-2, Omicron variant, Mato Grosso do Sul, genomic monitoring.

LISTA DE FIGURAS

7

Figura 1 - Diagrama simplificado do virião SARS-CoV-2pág.11

Figura 2 - Mapeamento genômico do Sars-CoV-2 no Mato Grosso do Sul no período de março de 2020 a fevereiro de 2022pág.23

LISTA DE ABREVIATURAS

CEP UFMG	Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Minas Gerais
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECA2	Enzima Conversora de Angiotensina II
ESPII	Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
FDA	Food and Drug Administration
FIOCRUZ/MG	Fundação Oswaldo Cruz de Minas Gerais
GISAID	Do inglês “Global Initiative on Sharing All Influenza Data” - Iniciativa Global sobre Compartilhamento de Todos os Dados da Gripe
INF	Intervenções Não Farmacológicas
LACEN/MS	Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso do Sul
OMS	Organização Mundial da Saúde
RNA	Ácido ribonucleico
RSI	Regulamento Sanitário Internacional
RT-qPCR	Do inglês Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction – “Transcriptase Reversa – Reação em Cadeia da Polimerase”
SARS – CoV-2	Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave <u>SE – Semana Epidemiológica</u>
SES	Secretaria de Estado de Saúde
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
TC	Tomografia Computadorizada
VOCs	Variantes de Preocupação
VOIs	Variantes de Interesse
VUMs	Variantes sob Monitoramento

SUMÁRIO		9
1. INTRODUÇÃO		10
2. REVISÃO DE LITERATURA		12
2.1 O vírus SARS-CoV-2		12
2.1.1 Transmissão		15
2.2 Epidemiologia		16
2.3 Aspectos clínicos da infecção pelo Sars-CoV-2		18
2.4 Diagnóstico laboratorial da infecção pelo Sars-CoV-2		19
2.5 Tratamento		20
2.6 Prevenção e Controle da infecção pelo Sars-CoV-2		21
3. VIGILÂNCIA GENÔMICA		22
3.1 Mapeamento genômico do Sars-CoV-2 no Mato Grosso do Sul no período de março de 2020 a fevereiro de 2022.		24
3.1.2 SARS-COV-2 e a variante Ômicron		24
4. OBJETIVOS		27
2.1 Objetivo Geral		27
2.2 Objetivos específicos		27
5. RESULTADOS		28
6. ARTIGO		29
7. CONCLUSÕES		39
REFERÊNCIAS		40
ANEXO A – ANUÊNCIA DA PESQUISA		47
ANEXO B - APROVAÇÃO DO CEP		48

1. INTRODUÇÃO

A doença denominada COVID-19, causadora da síndrome respiratória aguda grave (SRAG) pelo coronavírus 2 (SARS-CoV-2), apresenta elevada transmissibilidade e é responsável por altas taxas de mortalidade (LOTFI; HAMBLIN; REZAEI, 2020; MOREIRA, 2020).

Em 31 de dezembro de 2019 foi notificado à Organização Mundial da Saúde (OMS) a ocorrência de um surto de pneumonia na cidade de Wuhan, província de Hubei, República Popular da China em que rapidamente novos e numerosos casos surgiram, espalhando para o mundo e representando uma ameaça significativa à saúde humana, o que culminou, em 30 de janeiro de 2020, na declaração de uma emergência de saúde pública global (CHAN *et al.*, 2020; CRODA; GARCIA, 2020).

No Brasil, o primeiro caso de COVID-19 foi confirmado em 26 de fevereiro de 2020 e o primeiro óbito ocorreu em 17 de março de 2020, seguido de transmissão comunitária em todo o país em 20 de março de 2020 (BRASIL, 2020; GIOVANETTI *et al.*, 2022). Os dois primeiros casos de COVID-19 em Mato Grosso do Sul (MS) foram confirmados em 14 de março de 2020 e o primeiro óbito confirmado foi comunicado pela Secretaria de Estado de Saúde no dia 31 de março de 2020 (SES/MS, 2020).

O estado de Mato Grosso do Sul, localizado na região Centro-Oeste do Brasil, experimentou uma carga substancial da epidemia de SARS-CoV-2, com um número considerável de casos confirmados e mortes atribuídas à COVID-19. Em resposta, foram implementadas várias medidas para conter a propagação e aliviar a pressão sobre o sistema de saúde. As medidas incluíram distanciamento social, promoção do uso de máscaras e *lockdowns* localizados em áreas de alta infecção. A capacidade de testagem foi aumentada e os esforços de rastreamento de contatos foram aprimorados para identificar e isolar indivíduos infectados (SES/MS, 2020).

Ao longo da progressão da epidemia, diferentes variantes, incluindo Variantes de Preocupação (VOCs), Variantes de Interesse (VOIs) e Variantes sob Monitoramento (VUMs), foram identificadas no estado (TOSTA *et al.*, 2023). No entanto, a diversidade genômica e a dinâmica evolutiva da onda de Ômicron do SARS-CoV-2 no estado de Mato Grosso do Sul permaneceram em grande parte desconhecidas.

Para suprir essa lacuna, e considerando a relevância da implementação de

intervenções de saúde pública a fim de mitigar maior propagação dessa linhagem no Estado, a presente pesquisa teve como objetivo caracterizar os genomas do SARS-CoV-2 de amostras coletadas entre janeiro e fevereiro de 2022, haja vista a relevância da detecção oportuna da variante em circulação, o monitoramento e rastreamento genômico, visando fornecer subsídios sobre o crescimento dessa linhagem. A pesquisa insere-se no programa estabelecido de vigilância genômica entre o Laboratório Central de Saúde – LACEN/MS, Secretaria de Saúde do estado de Mato Grosso do Sul e a FIOCRUZ de Minas Gerais, aprovada no CEP UFMG sob o número 32912820.6.1001.5149.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O vírus SARS-CoV-2

Os SARS-CoV-2 é um vírus de RNA envelopado, fita simples de sentido positivo, pertencente à subfamília *Orthocoronavirinae*, família *Coronaviridae*, e ordem *Nidovirales*. Também conhecidos como coronavírus da subfamília *Orthocoronaviridae* se dividem em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* (King et al., 2011). Dentre esses gêneros, sete coronavírus são conhecidos por infectar humanos, dois *Alphacoronavirus* (HCoV-229E e HCoV-NL63) e cinco *Betacoronavirus* (HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, SARS-CoV-2 e MERS-CoV) (Current ICTV Taxonomy Release, 2020).

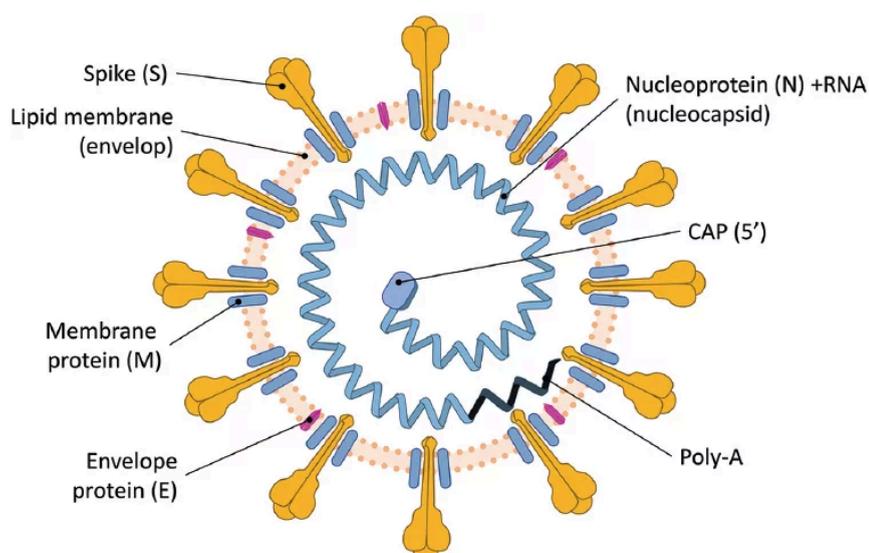


Figura 1. Diagrama simplificado do virião SARS-CoV-2.

Fonte: Cui *et al.*, 2023.

Por meio da caracterização genômica do SARS-COV-2 foi possível prever que morcegos e roedores são as prováveis fontes gênicas dos *Alphacoronavirus* e *Betacoronavirus*, e espécies aviárias aparentemente são as fontes genéticas de *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*. Os coronavírus se tornaram os principais responsáveis por surtos de doenças respiratórias emergentes, bem como podem causar doenças entéricas, hepáticas e neurológicas em diferentes espécies animais, incluindo camelos, bovinos, gatos e morcegos. Em humanos, os mesmos causam doenças que variam do resfriado comum a doenças mais graves que levam a óbito em humanos (CASCELLA *et al.*, 2022).

As primeiras ocorrências de coronavírus humanos endêmicos foram relatadas na década de 1960 (CORMAN *et al.*, 2018), quando HCoV-OC43 (Hamre; Procknow, 1966) e HCoV-229E (McIntosh, 1967) foram identificados como causas de preocupação em infecções do trato respiratório superior, estando associados a doenças pulmonares graves em idosos, recém-nascidos e imunocomprometidos (PERLMAN; NETLAND, 2009). Em 2004 e 2005, dois outros coronavírus foram identificados, o HCoV-NL63 (VAN DER HOEK *et al.*, 2004) em pacientes hospitalizados e crianças com doença respiratória grave e HCoV-HKU1 em pacientes idosos com comprometimento de saúde, respectivamente.

Nas últimas duas décadas, outros dois coronavírus epidêmicos foram relatados, sendo responsáveis pela letalidade acentuada em humanos, sendo estes a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) (DROSTEN *et al.*, 2003) em 2002 e a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) (ZAKI *et al.*, 2012) em 2012. O SARS-CoV foi identificado pela primeira vez no sul da China (província de Guangdong) em novembro de 2002 (DROSTEN *et al.*, 2003; KZIAZEK *et al.*, 1953). Ao fim dessa epidemia, a China relatou mais de 8.000 casos da doença e 774 óbitos e letalidade de 7% (MAY *et al.*, 2004). O surto global de SARS foi controlado em julho de 2003 e desde 2004 não houve nenhum caso relatado (PEERI *et al.*, 2020). Já, em 2012 na Arábia Saudita o MERS foi pela primeira vez identificado, onde um homem de 60 anos apresentou pneumonia grave (ZAKI *et al.*, 2012). Desde então, 27 países reportaram casos, sendo 2.494 confirmados laboratorialmente, 858 óbitos e letalidade de 35% (AL-OMARI *et al.*, 2019; ANDERSEN *et al.*, 2020).

Em 2019, o sétimo coronavírus conhecido por infectar humanos foi identificado como causador de uma epidemia de pneumonia na China em novembro

deste ano (GORBALENYA *et al.*, 2019; ANDERSEN *et al.*, 2020). Em 11 de fevereiro de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) denominou a nova doença como “COVID-19”, abreviação de “*coronavirus disease 2019*” (WHO, 2020). Em março do mesmo ano, o Grupo de Pesquisa *Coronaviridae*, do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus, responsável pela classificação de vírus e nomenclatura de táxons da família *Coronaviridae*, reconheceu este vírus provisoriamente denominado 2019-nCoV e, após pesquisas de identificação, o mesmo foi comprovado como um clado irmão do coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) e nomeado como SARS-CoV-2 (ANDERSEN *et al.*, 2020).

O SARS-CoV-2 foi primeiramente identificado em Wuhan, porém sua origem ainda é discutida (Andersen *et al.*, 2020). A OMS divulgou um relatório que explora diversas hipóteses sobre a origem do vírus e mesmo não apresentando resultados conclusivos, foi elencada a importante participação de animais no ciclo de transmissão (WHO, 2022a). As análises genômicas permitiram que se conhecesse a provável evolução da cepa SARS-CoV-2 encontrada em morcegos que apresenta semelhança ao SARS-CoV e MERS-CoV e então avançou para hospedeiros intermediários como pangolins e martas e por último para humanos (CASCELLA *et al.*, 2022; ZHANG *et al.*, 2020; ORESHKOVA *et al.*, 2020). A sequência genômica mais próxima do SARS-CoV-2 foi encontrada em um coronavírus de morcego (*Rhinolophus affinis*) RaTG13 com 96,2% de semelhança (ANDERSEN *et al.*, 2020).

2.1.1 Transmissão

A transmissão do SARS-CoV-2 acontece basicamente pelo contato humano, na qual ao tossir, espirrar ou falar estes emitem gotículas ou partículas contaminadas. A exposição se dá por alguém vir a inalar essas gotículas ou partículas, ou entrar em contato com superfícies contaminadas por estes, e leve pelas mãos para contato com boca, nariz e olhos (CDC, 2020).

O contato com superfícies foi bem elucidado por diversas pesquisas de viabilidade do vírus em superfícies. Os resultados comprovaram que a maior viabilidade do vírus se dá em aço inoxidável e plástico, em comparação a superfícies de cobre ou papelão, sendo o vírus detectável como viável por até 72 horas (VAN

DOREMALEN *et al.*, 2020).

Em baixas temperaturas o SARS-CoV-2 pode se manter viável por até 28 dias a 20 °C, em superfícies como vidro, cédulas de papel, aço inoxidável e polímeros. Em relação ao agente infeccioso este é viável por menos de 24 horas a 40 °C nas diversas superfícies citadas (RIDDELL *et al.*, 2020).

A transmissão aérea de gotículas e partículas é menos comum desde que seja respeitado o distanciamento de 1,8 metros, mas a mesma pode acontecer por ocupação de salas por grupos diferentes e em períodos diferentes do mesmo dia, na qual se o primeiro grupo tiver a fonte de contaminação, as gotículas ficam presentes podendo vir a transmitir para o próximo grupo ocupante. Sendo essa transmissão possível por ocupação superior a 15 minutos de exposição ao agente em local fechado e com pouca ventilação (CDC, 2020).

A possibilidade de infecção vertical é bem reduzida, ocasionando casos de infecção materna pelo agente (Kotlyar *et al.*, 2021). Quanto a transmissão oral-fecal mesmo se tendo o conhecimento de que o RNA do vírus é encontrado nas fezes e intestino, a mesma foi comprovada em cultura de células, porém não existem ainda evidências que corroborem para a infecção em humanos (PEDERSEN *et al.*, 2021; Termansen *et al.*, 2022).

Os meios de transmissão são reduzidos com o uso de dispositivos de proteção como máscaras, luvas e aventais descartáveis, lavagem correta e frequente das mãos, higienização de superfícies com agentes desinfetantes e prática de distanciamento social (PNAS, 2022; Handwashing na effective tool to prevent COVID-19, 2020).

2.2 Epidemiologia

A doença por se apresentar geralmente de forma assintomática ou com sintomas leves em muitos indivíduos (Day M, 2020; Kronbicher *et al.*, 2020), é bem provável que a transmissão possa ter ocorrido antes desse período (WHO, 2022c). O SARS-CoV-2 foi o principal causador de casos de pneumonia em Hubei, o vírus então se espalhou para as demais províncias (WU *et al.*, 2020).

Em pouco tempo após seu relato, outros países apresentaram circulação viral significativa, sendo a principal fonte de transmissão pessoas que retornaram de viagens da China. Primeiramente o vírus se disseminou pela Coreia do Sul, Itália, Irã

e Japão e posteriormente para os demais países da Europa, do Continente Americano e África (WHO, 2020).

No fim de janeiro de 2020, a OMS declarou o surto da COVID-19 como uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII), o mais alto nível de alerta da Organização, conforme o Regulamento Sanitário Internacional (RSI). Com essa decisão diversas medidas vieram para otimizar a coordenação, a cooperação e a solidariedade global para interromper a propagação viral (WHO, 2022b).

Com a propagação do vírus para várias regiões do mundo, a OMS declarou oficialmente o surto de COVID-19 como uma pandemia, em 11 de março de 2020. A partir desse momento o SARS-CoV-2 se espalhou para 223 países, com mais de 500 milhões de casos e mais de 6 milhões de óbitos relatados globalmente (WHO, 2022b).

Os estados americanos foram os mais acometidos pelas infecções por SARS-CoV-2 (mais de 78 milhões) e óbitos (mais de 900 mil) relacionados a COVID-19, seguidos pelo Brasil e Índia no número de óbitos. A estimativa atual da OMS da taxa global de mortalidade pela COVID-19 é de 0,82% (WHO, 2020).

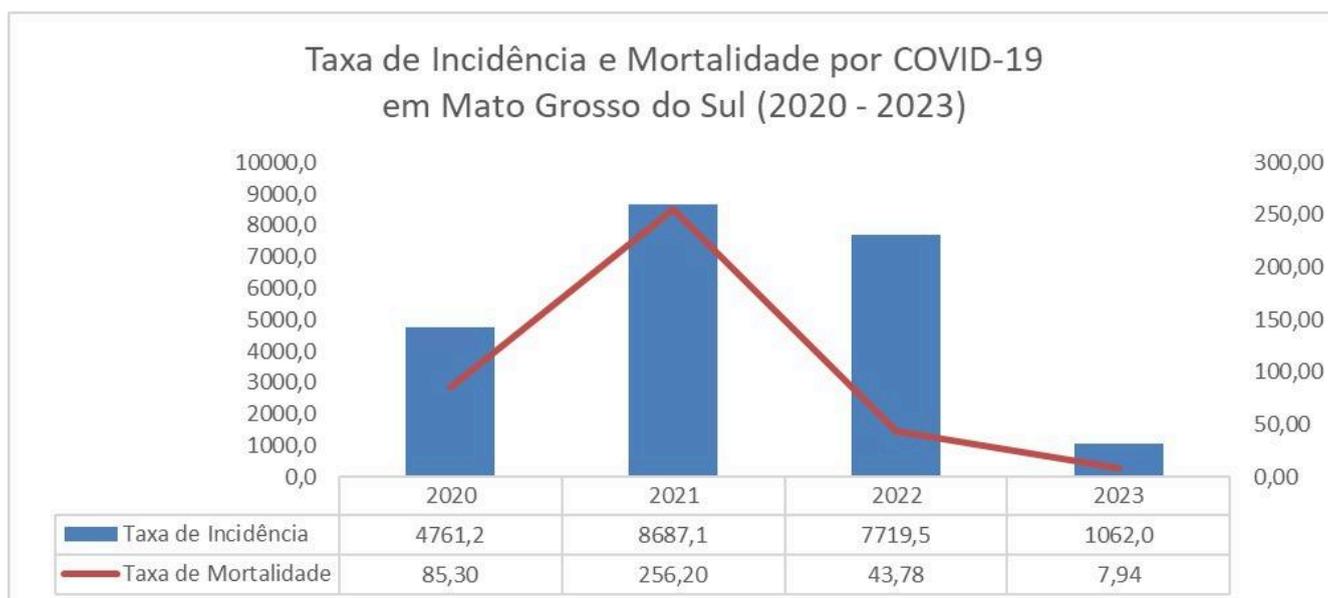
A mortalidade em indivíduos hospitalizados variou em média de 10% a 30% durante o período pandêmico em diferentes países, com a maioria dos casos em pacientes homens, idosos e com comorbidades preexistentes admitidos em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (O'DRISCOLL *et al.*, 2021; RANZANI *et al.*, 2021; CUCINOTA *et al.*, 2020; AULD *et al.*, 2022).

Dados da literatura mostram que 54,8% dos casos importados no Brasil no início da pandemia foram provenientes de viajantes vindos da Itália, seguido da China e França (Candido *et al.*, 2020). Mesmo com as medidas de controle adotadas pelo governo brasileiro, o vírus se espalhou rapidamente por todo país. (CRODA *et al.*, 2020).

No Brasil, o primeiro caso de COVID-19 foi confirmado em 26 de fevereiro de 2020 e o primeiro óbito ocorreu em 17 de março de 2020. Em 3 de março de 2020, havia 488 casos suspeitos notificados, dois confirmados e 240 descartados no país, sem evidência de transmissão local. Os dois primeiros casos confirmados eram indivíduos do sexo masculino, residentes na cidade de São Paulo, SP, que haviam regressado de viagem à Itália (BRASIL, 2020).

Os dois primeiros casos de COVID-19 no estado do Mato Grosso do Sul (MS) foram confirmados em 14 de março de 2020, indivíduo do sexo masculino, 31 anos, que havia regressado de viagem da Inglaterra e indivíduo do sexo feminino, 23 anos, contato com caso confirmado e ambos residentes na cidade de Campo Grande, MS. O primeiro óbito causado por Covid-19 foi comunicado pela Secretaria de Estado de Saúde no dia 31 de março de 2020. Tratava-se de uma mulher de 64 anos, residente do município de Batayporã e que teve contato com duas irmãs com histórico de viagem recente à Bélgica. (SES/MS, 2020).

No final do ano de 2020, o Brasil se destacava como o terceiro país em número de casos confirmados e o segundo em número de óbitos pelo agravo, sendo que a Região Centro-Oeste apresentava-se com as maiores taxas de incidência e de mortalidade entre as regiões do país (OLIVEIRA *et al.*, 2022).



Fonte: Boletim Epidemiológico Covid-19, SES/MS

2.3 Aspectos clínicos da infecção pelo Sars-CoV-2

A COVID-19 é uma doença causada pelo SARS-COV-2 que acomete os seres humanos de diversas maneiras, podendo ocorrer de forma assintomática ou até mesmo oligossintomática, sendo a doença clínica caracterizada pela insuficiência respiratória aguda com necessidade de suporte mecânico de ventilação, choque séptico, sendo possível a falência múltipla de órgãos e óbito do indivíduo (CASCELLA *et al.*, 2022).

O período de incubação do SARS-CoV-2 é definido de acordo com a variante circulante variando de 5 a 11,5 dias para que o paciente venha a desenvolver sintomas (STEPHEN *et al.*, 2020; JANSEN *et al.*, 2021).

As diretrizes dos Institutos Nacionais de saúde classificam a infecção da COVID-19 em cinco tipos, que são: infecção assintomática ou pré-sintomática, doença leve, doença moderada, doença grave e doença crítica. A doença assintomática é caracterizada por indivíduos com teste positivo para a infecção pelo SARS-COV-2, porém sem apresentarem sintomas clínicos. A doença leve se caracteriza por indivíduos que apresentam algum sintoma como febre, tosse, mal-estar, dor de garganta, anosmia, disgeusia entre outros, mas que não apresentem falta de ar ou alteração radiológica em exame de tórax (TAN *et al.*, 2020).

Já a doença moderada se caracteriza pela presença de sintomas, possíveis achados radiológicos de doença do trato respiratório inferior, bem como alteração de saturação de oxigênio ($SpO_2 \geq 94\%$ em ar ambiente (TAN *et al.*, 2020).

Na doença grave os indivíduos apresentam alteração de saturação ($SpO_2 \leq 94\%$ em ar ambiente; uma relação entre pressão parcial de oxigênio arterial e fração inspirada de oxigênio, (PaO_2/FiO_2) <300 com taquipneia acentuada com frequência respiratória >30 respirações/min ou infiltrados pulmonares $>50\%$ (MEYER *et al.*, 2021).

Sendo a doença crítica a forma mais complicada na qual os indivíduos apresentam insuficiência respiratória aguda, choque séptico e/ou disfunção de múltiplos órgãos (MEYER *et al.*, 2021).

A COVID-19 é uma doença que acomete o sistema respiratório, porém a mesma pode ser considerada uma doença viral sistêmica, uma vez que acomete diferentes órgãos em casos de pacientes em quadros de maior gravidade em

hospitalização (CASCELLA *et al.*, 2022).

Entre as manifestações em múltiplos órgãos temos: manifestações renais (ex. lesão renal aguda) (Martinez-Rojas *et al.*, 2020); manifestações cardíacas (ex. lesão miocárdica, arritmias, cardiopatia e choque cardiogênico); manifestações hematológicas (ex. linfopenia e trombocitopenia); manifestações gastrointestinais (ex. diarreia, náusea e/ou vômito); manifestações hepatobiliares (ex. disfunção hepática); manifestações endocrinológicas (ex. níveis anormais de glicose no sangue e cetose euglicêmica) (Gupta *et al.*, 2020); manifestações neurológicas (ex. anosmia e ageusia) (Toscano *et al.*, 2020) e manifestações cutâneas (ex. lesões acrais semelhantes a pseudo-frieiras) (DANESHGARAN *et al.*, 2020).

A covid longa tem se conformado como uma nova entidade nosológica surgida na sequência da covid-19. Com contornos ainda vagos, ela está impulsionando pesquisas sobre a sua prevalência, sintomas, diagnóstico, duração e métodos de tratamento. Enquanto segue sem definição precisa, a covid longa ganha terreno em meio às disparidades e injustiças sociais implicadas nesta atual zona nebulosa, complexa e incerta que é frequentemente descrita como “fim da pandemia” (SEGATA; LÖWY, 2024).

A morbidade e mortalidade são severas nas primeiras semanas após a infecção pela Covid-19, até 70% dos sobreviventes da Covid-19 podem apresentar complicações médias a longo prazo. Os sintomas persistentes após a infecção podem durar semanas a meses, reduzindo severamente a qualidade de vida dos pacientes após a fase aguda da infecção. Esses sintomas são geralmente relatados como "COVID longa" (HUANG *et al.*, 2021)

Estima-se que 31%-69% dos acometidos pela Covid-19 apresentarão sintomas de COVID longa após a recuperação inicial da infecção por SARS-CoV-2 . Geralmente, os sintomas iniciais da COVID longa incluem fadiga (29%), dor muscular, palpitações, comprometimento cognitivo (28%), dispneia (21%), ansiedade (27%), dor no peito e artralgia (18%), complicações cardiovasculares e também pode afetar o sistema nervoso central (SNC). A neuroinflamação crônica ativa células gliais que levam a distúrbios neurodegenerativos (KOC *et al.*, 2022; SU *et al.*, 2022).

2.4 Diagnóstico laboratorial da infecção pelo Sars-CoV-2

O diagnóstico da infecção pelo SARS-Cov-2 baseia-se em um teste molecular de transcriptase reversa seguida por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RTq-PCR), para detectar o cDNA do vírus em amostras respiratórias como swab nasofaríngeo e oral ou aspirado brônquico. Esse teste apresenta alta sensibilidade e especificidade para detecção do SARS-COV-2 (BOGER *et al.*, 2021).

Esse teste molecular por RTq-PCR pode vir a apresentar resultados falsos negativos caso a quantidade de genoma esteja abaixo do limite de detecção do teste, ou a janela de tempo de replicação viral seja perdida. Bem como por se tratar de uma metodologia complexa, o mesmo exige equipe qualificada, infraestrutura laboratorial adequada, o que gera um alto custo de análise, o que dificulta a ampla disponibilidade (BOGER *et al.*, 2021).

Outra forma de detecção da infecção pela COVID-19 é o teste rápido de antígeno. O teste de antígeno é um exame imunocromatográfico rápido, que ao invés de detectar o cDNA do vírus, como na RTq-PCR, detecta as proteínas do SARS-CoV-2. Embora com menor sensibilidade, possuem tempo de análise reduzido em relação ao teste molecular sendo uma alternativa para locais de difícil acesso aos insumos do teste molecular, bem como desprovidos de estrutura laboratorial necessária (WHO, 2021).

A realização de testes sorológicos, que avaliam a presença de anticorpos IgM e IgG em resposta à infecção, é recomendada entre a primeira e terceira semana após o início dos sintomas. Na vigilância epidemiológica, esses exames são frequentemente usados para medir a taxa de infecção pelo SARS-CoV-2 em uma comunidade. É importante lembrar que os resultados podem diferir devido à especificidade e sensibilidade dos testes, bem como à variação da resposta imunológica do paciente e histórico vacinal (BOGER *et al.*, 2021).

Os exames de imagem podem vir a auxiliar em casos de agravamento dos sintomas, principalmente quando eventos respiratórios críticos devem ser monitorados, sendo a radiografia de tórax, ultrassonografia pulmonar ou tomografia computadorizada (TC) de tórax, ferramentas úteis no manejo clínico dos casos (CASCELLA *et al.*, 2018).

Os exames laboratoriais podem vir a ser utilizados para monitorar a progressão da doença. A realização de testes bioquímicos de função renal,

realização de hemogramas e avaliação de marcadores inflamatórios estão entre essas etapas. Os profissionais de saúde podem usar esses exames laboratoriais para obter informações importantes sobre o estado de saúde do paciente e ajudá-los a tomar decisões clínicas adequadas sobre o manejo da doença (CASCELLA *et al.*, 2018).

2.5 Tratamento

Com o advento da pandemia diversos desafios foram encontrados, sendo a terapêutica da infecção pelo SARS-COV-2 uma delas, onde diante de aumentos significativos de casos durante os picos epidêmicos a forma de manejo no tratamento dessa doença foi discutido por diversos grupos por todo mundo (CASCELLA *et al.*, 2022).

No início, o conhecimento sobre a doença era limitado, o que criou a necessidade de mitigar essa nova infecção com terapias experimentais e reaproveitamento de medicamentos, com foco nos sinais e sintomas. A partir de então ocorreram avanços significativos, o que levou a uma melhor compreensão do manejo e desenvolvimento de novas terapêuticas (CASCELLA *et al.*, 2022).

Entre opções terapêuticas potenciais propostas, autorizadas ou aprovadas para uso clínico no manejo da COVID-19 estão: terapias antivirais (ex. Molnupiravir, Remdesivir, Paxlovid, Ritonavir em combinação com Nirmatrelvir e Lopinavir/ritonavir), produtos de anticorpos neutralizantes anti-SARS-CoV-2 (REGN-COV2, ex. Casirivimab, Imdevimab, Bamlanivimab/Etesevimab e Sotrovimabe) e agentes imunomoduladores (ex. corticosteróides, interferon- β -1a, tocilizumab, Sarilumab/Siltuximab, Baricitinibe e tofacitinibe) (CASCELLA *et al.*, 2022). No Brasil, cinco medicamentos estão aprovados pela ANVISA: Remdesivir, Sotrovimabe, Baricitinibe, Paxlovid e Monulpiravir e Toxilizumabe (ANVISA, 2022; BRASIL, 2022).

2.6 Prevenção e Controle da infecção pelo Sars-CoV-2

A transmissão do SARS-CoV-2 pode ser reduzida com o uso de máscaras de proteção facial, lavagem e higienização adequada das mãos e intervenções não farmacológicas como o distanciamento social. As máscaras são empregadas para

reduzir a emissão de gotículas carregadas com o vírus pelo indivíduo infectado (fonte), principalmente considerando a possibilidade de infectados assintomáticos. Essas ainda permitem a redução da inalação dessas gotículas por outro usuário, evitando que o mesmo venha a se contaminar. A dinâmica para o controle da fonte e a proteção do usuário é complementar e possivelmente sinérgica, de modo que o benefício individual aumenta com o aumento do uso de máscaras na comunidade (ZHANG *et al.*, 2020).

As Intervenções Não Farmacológicas (INF) como distanciamento social, quarentena, isolamento, bloqueios, toque de recolher, restrições de viagem, entre outros, foram adotadas por diversas nações ao longo do mundo, a fim de proteger a população da COVID-19. Essas estratégias foram utilizadas para reduzir o número de casos para níveis aceitáveis ou eliminar a transmissão pessoa-pessoa do vírus e mostrou-se eficaz. No entanto, as INFs são uma forma complexa de intervenção, pois apresentam variáveis como fatores culturais, sociais e econômicos, que podem vir a atrapalhar sua implementação e uso regular em um sistema de saúde (REGMI *et al.*, 2021).

O grande empenho de instituições e pesquisadores foi essencial para o desenvolvimento de vacinas contra o SARS-CoV-2 em uma velocidade sem precedentes (Thanh *et al.*, 2020).

Em dezembro de 2020, a *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA emitiu a primeira autorização de uso emergencial para o uso da vacina Pfizer-BioNTech COVID-19 em pessoas com 16 anos ou mais para a prevenção da COVID-19 (OLIVEIRA *et al.*, 2023).

O desenvolvimento de vacinas contra casos graves da COVID-19 evitou milhões de óbitos em todo o mundo. Em 2021, com o surgimento da variante de preocupação (VOC) Ômicron, o aumento do escape imunológico e diminuição da eficácia da vacina, levou muitos países a recomendarem a primeira dose de reforço para manutenção da proteção, especialmente contra os casos com evolução grave.

A partir de janeiro de 2021, deu-se início a estratégia de vacinação para COVID-19 em todo território nacional. No Mato Grosso do Sul, as doses foram destinadas aos municípios a partir do dia 18 de janeiro de 2021, iniciando pelos grupos profissionais da saúde que atuavam na linha de frente, idosos em instituições de longa permanência, pessoas com deficiência institucionalizados (a partir de 18 anos) e população indígena que vivem em terras indígenas, seguindo as

recomendações do Ministério da Saúde (Diário Oficial Eletrônico, Nº 10.382/2021. Disponível em: https://www.spdo.ms.gov.br/diariodoe/Index/Download/DO10382_19_01_2021).

Pode-se afirmar que a estratégia de vacinação no Estado foi crucial no controle da circulação viral e transmissibilidade entre a população demonstrando sua efetividade na prevenção da COVID-19. Tal estratégia foi destaque nacional, colocando o Estado por meses nas primeiras colocações entre os demais do País. A logística de distribuição dos imunizantes no território Estadual foi feita com apoio das polícias militar e civil e pelo Corpo de Bombeiros, o que permitiu maior agilidade no processo. Ao todo foram quase seis milhões de doses de vacina para COVID-19 aplicadas no Estado até dezembro de 2022 (VACINÔMETRO, 2021).

Nesta ocasião, vacinas altamente eficazes foram distribuídas ao redor do mundo e pesquisas demonstraram que quanto maior a cobertura vacinal, menor as taxas de infecção, hospitalizações e óbitos pela doença, especialmente entre indivíduos vulneráveis com comorbidades e fatores de risco associados à COVID-19 (MOGHADAS *et al.*, 2021).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomendou em 2022 uma segunda dose de reforço para adultos com 60 anos ou mais e aqueles com fatores de risco, mas a sua adoção foi heterogênea entre os países (LAZAR NETO *et al.*, 2024).

A neutralização por anticorpos contra as variantes Gama, Delta e Omicron foi de 78%, 65,9% e 58,5% respectivamente, após uma média de 32 dias após a segunda dose da CoronaVac. Houve uma diminuição na frequência de anticorpos neutralizantes para 17,1%, 24,4% e 2,4% contra as variantes Gama, Delta e Omicron, respectivamente, após, em média 186 dias das duas doses da vacina CoronaVac. A dose de reforço com a vacina Pfizer foi capaz de induzir a produção de anticorpos neutralizantes contra a variante Omicron em 87,2% dos indivíduos avaliados (SILVA *et al.*, 2022).

Em janeiro de 2023, as subvariantes BQ.1 (uma subvariante BA.5) e XBB (uma subvariante BA.2) do SARS-CoV-2 substituíram variantes ômicron anteriormente dominantes globalmente, incluindo BA.5. XBB.1.5, que é descendente de XBB e aumentaram rapidamente a prevalência da Covid-19 no mundo. As subvariantes BQ.1.1 e XBB possuem substituições relativas a BA.5 e BA.2, respectivamente, no domínio de ligação ao receptor de sua proteína spike, que é o

principal alvo para vacinas e anticorpos monoclonais terapêuticos (mAbs) para Covid-19 (IMAI *et al.*, 2022; URAKI *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023).

Estudos demonstraram que pessoas que receberam o reforço bivalente contendo BA.5 tiveram melhor atividade de neutralização contra todas as subvariantes ômicron (especialmente contra BA.2.75.2, BQ.1.1 e XBB) do que aquelas que receberam um ou dois reforços monovalentes (DAVIS-GARDNER *et al.*, 2022; IMAI *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023).

3 VIGILÂNCIA GENÔMICA

A vigilância genômica das variantes do SARS-CoV-2 é importante para rastrear o perfil genômico deste vírus e a acumulação de mutações que por um lado podem alterar as funções virais em termos de contaminação e transmissibilidade e por outro podem ser importantes para o surgimento de novas variantes, linhagens e sublinhagens que podem exercer uma pressão significativa sobre o sistema de saúde de um determinado país (LIMA *et al.*, 2022).

Algumas alterações do vírus podem afetar propriedades importantes, como a facilidade com que ele se dissemina, a gravidade da doença, a resposta imunológica às vacinas, a eficácia de medicamentos terapêuticos, as ferramentas de diagnóstico ou, até mesmo, a tomada de medidas restritivas de saúde pública e sociais (WHO, 2022a).

Diversas variantes do SARS-CoV-2 surgem no mundo, evidenciando o desafio de reforçar a capacidade de detecção oportuna com ampliação e fortalecimento da vigilância epidemiológica, vigilância laboratorial e comunicação rápida para apoiar as medidas de prevenção e controle da pandemia da COVID-19 (TELENTI; HODCROFT; ROBERTSON, 2022).

Variantes virais são o resultado de mutações que ocorrem durante a replicação viral. Uma mutação é uma alteração em um genoma de um padrão de vírus que difere do padrão típico, incluindo uma substituição, remoção ou inclusão. O vírus SARS-CoV-2 não é exceção, e múltiplas variantes do mesmo foram relatadas em todo o mundo desde seu início (CHAVDA; PATEL; VAGHASIYA, 2022).

No cenário mundial, a partir de outubro de 2020, novas variantes do SARS-CoV-2 com maior mutação começaram a surgir. Estas variantes foram

distinguidas por um maior número de mutações não sinônimas, principalmente na proteína spike, particularmente o caso da ômicron e propriedades fenotípicas distintas, incluindo transmissibilidade e antigenicidade alteradas. Variantes do SARS-CoV-2 foram declaradas variantes de preocupação (VOC) pela Organização Mundial de Saúde (e agências nacionais de saúde pública) com base no fato de apresentarem transmissibilidade ou escape imunológico substancialmente alterados, o que justifica uma monitorização rigorosa (CARABELLI, *et al.*, 2023).

A primeira variante de preocupação (VOC) identificada Alpha, foi detectada em dezembro de 2020 pela primeira vez no Reino Unido. Cada VOC mostrou vantagens de transmissão em relação às variantes anteriores e tornou-se dominante, quer regionalmente nos casos de Alpha (linhagem PANGO 10 B.1.1.7), Beta (B.1.351) e Gama (P.1) na Europa, África do Sul e América do Sul, respectivamente ou globalmente, nos casos de Delta detectada em maio de 2021 (sublinhagens B.1.617.2/AY) e das muitas sublinhagens ômicron (sublinhagens B.1.1.529/BA, como BA.1, BA.2 e BA. 5) detectadas a partir de novembro de 2021, sendo a primeira vez na África do Sul (TELENTI; HODCROFT; ROBERTSON, 2022).

No Brasil, as variantes Alfa, Beta e Gama foram identificadas por vigilância genômica durante as semanas epidemiológicas de 1 a 14 de 2020. Desde então, novos tipos surgiram e a vigilância genômica continua a desempenhar um papel importante na resposta às mutações virais, refletindo a dinâmica contínua da pandemia (WOLF *et al.*, 2023).

A pandemia da COVID-19 expôs desafios genômicos em sistemas de vigilância de saúde pública. Laboratórios e redes dedicadas a ameaças de doenças específicas, como influenza, tuberculose, sarampo-rubéola e pólio foram mobilizados para apoiar os esforços de vigilância genômica do SARS-CoV-2. Em alguns contextos, redirecionar capacidades teve um custo para os programas de doenças e suas necessidades de vigilância e diagnóstico. Além disso, a escala, a representatividade geográfica, a pontualidade, a qualidade, a capacidade de comparação e integração de resultados de vigilância genômica com resultados de vigilância epidemiológica e clínica permanecem fracas (WHO, 2022e).

Em 2021, a Assembleia Mundial de Saúde convocou os Estados-membros a fortalecerem a vigilância genômica para a preparação e resposta a emergências. Mas essa apresenta desafios em termos de infraestrutura de laboratórios e vigilância, capacidades e habilidades necessárias e a harmonização entre sistemas

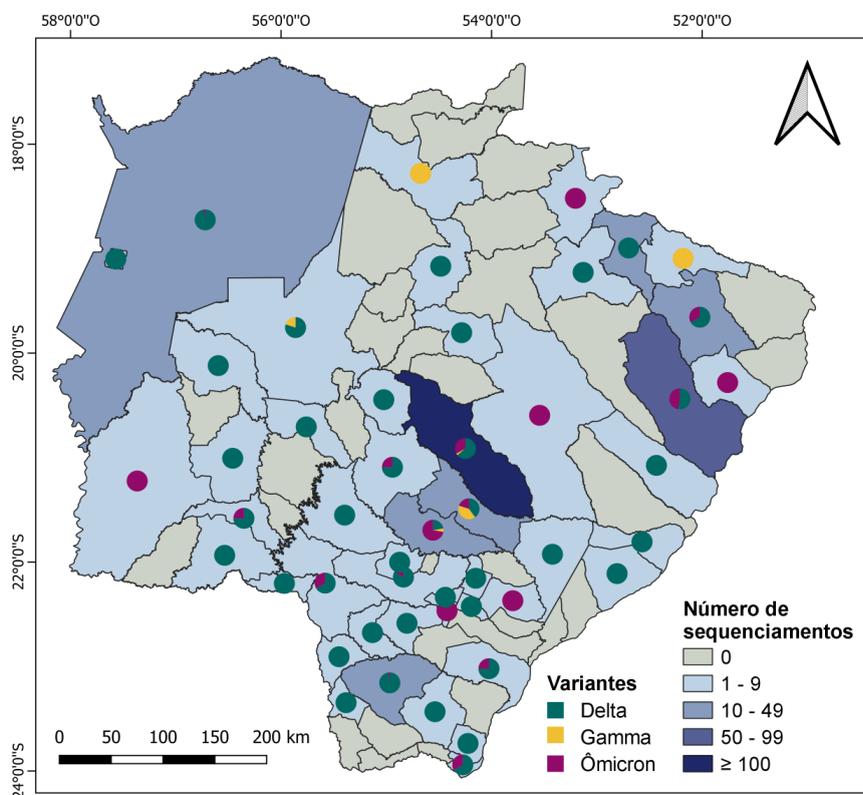
e países para que seja possível comparar e usar os dados de forma efetiva (WHO, 2022e).

Neste contexto, houve a implantação da Estratégia Global de Vigilância Genômica da Organização Mundial da Saúde que tem como meta a expansão da vigilância genômica para patógenos com potencial pandêmico e epidêmico e que essa seja fortalecida e escalada para ações de qualidade, oportunas e apropriadas dentro dos sistemas de vigilância locais a globais (WHO, 2022e).

Diante deste cenário, o Ministério da Saúde convocou equipes para elaboração de levantamento do estado da arte da vigilância genômica no âmbito da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), tendo como produto final uma proposta de estratégia de atuação da SVS para fortalecer a vigilância genômica do SARS-CoV-2 no País (BRASIL, 2021).

Desta forma, houve orientação da rede de vigilância epidemiológica e laboratorial de todo País quanto ao fluxo e ao critério para sequenciamento de amostras e padronização do envio dos resultados além de proposto estratégia de formação da vigilância em saúde do Sistema Único de Saúde (SUS) sobre vigilância genômica (BRASIL, 2021).

3.1 Mapeamento genômico do Sars-CoV-2 no Mato Grosso do Sul no período de março de 2020 a fevereiro de 2022.



Fonte: LACEN MS/2023.

3.1.2 SARS-COV-2 e a variante Ômicron

Desde o primeiro sequenciamento do genoma em janeiro de 2020, a vigilância genômica tem sido usada para compreender a evolução, a diversidade genética e a epidemiologia (incluindo transmissibilidade, mortalidade e prognóstico) do SARS-CoV-2. Em março de 2023, aproximadamente 13,7 milhões de sequências genômicas do SARS-CoV-2 estavam disponíveis na base de dados GISAID. O principal objetivo do monitoramento genômico é rastrear mutações e a dispersão de variantes do SARS-CoV-2 (OPAS, 2021).

Durante a pandemia de COVID-19, mutações no genoma do SARS-CoV-2 contribuíram para alterações na dinâmica pandêmica causadas pelo surgimento de variantes que proporcionaram novas ondas da doença (PADILHA *et al.*, 2023).

A variante Ômicron, linhagem B.1.1.529, foi a quinta variante de preocupação (VOC) designada pela OMS. Sendo primeiramente identificado em 23 de novembro de 2021, em uma amostra que fora coletada no dia 09 do mesmo mês, por meio do sequenciamento de genoma para investigar um aumento exponencial no número de casos na África do Sul, onde os casos diários atingiram 274 em 11 de novembro para 1.000 com o passar de apenas 15 dias (VAUGHAN *et al.*, 2021).

No dia 26 de novembro a variante Ômicron foi classificada como uma variante de preocupação (Wei *et al.*, 2021). Após isso, esta foi identificada em 185 países (Cov-Lineages, 2021). No Brasil, o primeiro caso confirmado da variante ocorreu em 12 de dezembro de 2021. Após esse momento, ela se disseminou rapidamente por todo território brasileiro e foi responsável pelo recorde no número de casos na pandemia, com mais de 3 mil casos positivos para infecção registrados em um mesmo dia (ZEISER *et al.*, 2022).

A variante Ômicron é caracterizada por apresentar um número elevado de mutações em relação a cepa inicial Wuhan-Hu-1 e outras VOCs, incluindo T91 no envelope, P13L, E31del, R32del, S33del, R203K, G204R na proteína do nucleocapsídeo, D3G, Q19E, A63T na matriz, N211del/L212I, Y145del, Y144del, Y143del, G142D, T95I, V70del, H69del, A67V em NTD, Y505H, N501Y, Q498R, G496S, Q493R, E484A, T478K, S477N, G446S, N440K, K417N, S375F, S373P, S371L, G339D em RBD, D796Y no peptídeo de fusão do pico, L981F, N969K, Q954H na repetição heptada 1 da proteína spike, bem como outras mutações nas proteínas não estruturais (Van Doremalen *et al.*, 2020). Análises da sequência do genoma da Ômicron sugerem que ela não é derivada de nenhuma das variantes que circulam atualmente e aparentemente apresenta uma origem diferente (WEI *et al.*, 2021).

A variante Ômicron compartilha mutações RBD com outras VOCs, como as mutações N501Y e K417N que conferem afinidades a ligação a ECA2 (enzima conversora de angiotensina II) aumentadas e reduzidas, respectivamente. Essa variante apresentou afinidade a ECA2 similar a Delta, indicando evolução na capacidade de se ligar ao receptor de forma eficaz. As interações envolvendo as novas mutações nos resíduos 493, 496, 498 e 501 mostraram restaurar a eficiência da ligação a ECA2, que seria perdida como resultado de outras mutações, como K417N. Além disso, o número intrigante de mutações na proteína spike parece conferir amplo escape de anticorpos em relação às variantes emergidas

anteriormente do SARS-CoV-2 (MANNAR *et al.*, 2022).

A primeira subvariante conhecida como BA.1 era a versão circulante mais comum da Ômicron, mas uma subvariante geneticamente distinta conhecida como BA.2 se espalhou rapidamente por todo o mundo. BA.2 difere de BA.1 em sua sequência gênica, bem como diferenças na sequência de aminoácidos na proteína spike e outras proteínas. Pesquisas indicaram que BA.2 seja mais transmissível do que BA.1, no entanto esta diferença parece ser menor que a diferença de transmissibilidade entre BA.1 e Delta. Pesquisas sobre reinfecção em nível populacional indicam que a infecção com BA.1 apresenta forte proteção contra a reinfecção por BA.2, mas a BA.2 pode causar formas mais graves da doença. Nos países em que a imunidade vacinal ou infecção natural é alta, não houve diferença na gravidade da doença entre BA.2 e BA.1 (WHO, 2022e).

OBJETIVOS

1.1 Objetivo Geral

Identificar o panorama genômico e fornecer informações sobre a prevalência e os padrões de transmissão da variante Ômicron (SARS-CoV-2) circulantes em Mato Grosso do Sul.

1.2 Objetivos específicos

- Realizar o sequenciamento em tempo real para obtenção do genoma completo do SARS-CoV-2 circulantes;
- Representar através da análise filogenética padrões de disseminação e transmissão da variante Ômicron na região;
- Especificar a distribuição das sublinhagens do SARS-CoV-2 no estado do Mato Grosso do Sul ao longo do tempo.

RESULTADOS

Os resultados obtidos na presente dissertação serão apresentados sob a forma de artigo científico publicado na revista *Viruses* (<https://doi.org/10.3390/v15071604>) conforme listado abaixo:

Artigo 1:

Unveiling the Circulation of the Omicron Variant through Retrospective Genomic Surveillance in Mato Grosso do Sul, Brazil.



Brief Report

Unveiling the Impact of the Omicron Variant: Insights from Genomic Surveillance in Mato Grosso do Sul, Midwest Brazil

Lívia de Mello Almeida Maziero ^{1,2,†} , Marta Giovanetti ^{3,4,*,†} , Vagner Fonseca ^{5,†} , Marina Castilhos Souza Umaki Zardin ⁶, Gislene Garcia de Castro Lichs ⁶, Grazielli Rocha de Rezende Romera ¹, Daniel Henrique Tsuha ¹, Danila Fernanda Rodrigues Frias ¹, Valdir Castanho Escandolhero ¹, Luiz Henrique Demarchi ⁶ , Larissa Domingues Castilho ^{1,2}, Karine Ferreira Barbosa ^{1,2} , Danielle Galindo Martins Tebet ^{1,2}, Joilson Xavier ³ , Hegger Fritsch ³ , Maurício Lima ³ , Carla de Oliveira ⁷ , Elaine Vieira Santos ⁸, Simone Kashima ⁸, Rodrigo Fabiano do Carmo Said ⁹, Alexander Rosewell ⁹, Julio Croda ¹⁰, Luiz Carlos Junior Alcantara ³ and Crhistine Cavalheiro Maymone Gonçalves ^{1,2}

- ¹ Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul, Campo Grande 9031-350, Brazil; melloliv12@hotmail.com (L.d.M.A.M.); grazielli_r@hotmail.com (G.R.d.R.R.); daniel.tsuha@saude.ms.gov.br (D.H.T.); danila.frias@saude.ms.gov.br (D.F.R.F.); valdir.escandolhero@outlook.com (V.C.F.); larissacastilhodocs@gmail.com (L.D.C.); karinelbarbosa@gmail.com (K.F.B.); dani.rafaletbet@gmail.com (D.G.M.T.); crhismay@gmail.com (C.C.M.G.); hegger.fritsch@gmail.com (H.F.); maurili15@hotmail.com (M.L.); luiz.alcantara@fiocruz.br (L.C.J.A.)
- ² Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande 79070-900, Brazil
- ³ Instituto Rene Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Preto 30190-009, Brazil; joilsonxavier@live.com (J.X.); hegger.fritsch@gmail.com (H.F.); maurili15@hotmail.com (M.L.); luiz.alcantara@fiocruz.br (L.C.J.A.)
- ⁴ Sciences and Technologies for Sustainable Development and One Health, University of Campus Bio-Medico of Rome, 00128 Rome, Italy
- ⁵ Coordenação de Vigilância, Preparação e Resposta a Emergências e Desastros (PHE), Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS), Brasília 25045-002, Brazil; vagnerfonseca@gmail.com
- ⁶ SES-MS—Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso do Sul, Campo Grande 79080-320, Brazil; ninaumaki@gmail.com (M.C.S.U.Z.); glichs@hotmail.com (G.G.d.C.L.); lhdemarchi@uol.com.br (L.H.D.)
- ⁷ Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 21040-900, Brazil; oliveirasc@yahoo.com.br
- ⁸ Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Rio de Janeiro 14015-160, Brazil; elainevs@alumni.usp.br (E.V.S.); skashima@hemocentro.fmrp.usp.br (S.K.)
- ⁹ Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS), Brasília 25045-002, Brazil; saidrod@paho.org (R.F.d.C.S.); rosewelale@paho.org (A.R.)
- ¹⁰ Fundação Oswaldo Cruz, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul—UFMS, Campo Grande 79081-746, Brazil; juliocroda@gmail.com
- * Correspondence: giovanetti.marta@gmail.com
- † These authors contributed equally to this work.



Citation: de Mello Almeida Maziero, L.; Giovanetti, M.; Fonseca, V.; Zardin, M.C.S.U.; de Castro Lichs, G.G.; de Rezende Romera, G.R.; Tsuha, D.H.; Frias, D.F.R.; Escandolhero, V.C.; Demarchi, L.H.; et al. Unveiling the Impact of the Omicron Variant: Insights from Genomic Surveillance in Mato Grosso do Sul, Midwest Brazil. *Viruses* **2023**, *15*, 1604. <https://doi.org/10.3390/v15071604>

Academic Editors: Manuela Sirceni and Ronald N. Hartly

Received: 3 July 2023
Revised: 15 July 2023
Accepted: 20 July 2023
Published: 22 July 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Genomic surveillance has emerged as a crucial tool in monitoring and understanding the dynamics of viral variants during the COVID-19 pandemic. In the Midwest region of Brazil, Mato Grosso do Sul has faced a significant burden from the SARS-CoV-2 epidemic, with a total of 613,000 confirmed cases as of June 2023. In collaboration with the Central Public Health Laboratory in the capital city of Campo Grande, we conducted a portable whole-genome sequencing and phylogenetic analysis to investigate the circulation of the Omicron variant in the region. The study aimed to uncover the genomic landscape and provide valuable insights into the prevalence and transmission patterns of this highly transmissible variant. Our findings revealed an increase in the number of cases within the region during 2022, followed by a gradual decline as a result of the successful impact of the vaccination program together with the capacity of this unpredictable and very transmissible variant to quickly affect the proportion of susceptible population. Genomic data indicated multiple introduction events, suggesting that human mobility played a differential role in the variant's dispersion dynamics throughout the state. These findings emphasize the significance of implementing public health interventions to mitigate further spread and highlight the powerful role of genomic monitoring in promptly tracking and uncovering the circulation of viral strains. Together those results underscore the importance of proactive surveillance, rapid genomic sequencing, and data sharing to facilitate timely public health responses.

Keywords: SARS-CoV-2; Omicron variant; Mato Grosso do Sul; genomic monitoring

1. Introduction

The Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a highly contagious coronavirus that emerged in late 2019, causing a global pandemic of acute respiratory illness known as ‘coronavirus disease 2019’ (COVID-19) and posing a significant threat to human health. The disease was first reported in Wuhan, Hubei province, China, with the World Health Organization declaring it a global public health emergency on 30 January 2020 [1,2]. Brazil confirmed its first case on 26 February 2020, followed by community transmission nationwide on 20 March 2020 [1,3]. Mato Grosso do Sul, situated in the Midwest region of Brazil, has experienced a substantial burden from the SARS-CoV-2 epidemic, with a total of 613,000 confirmed cases as of June 2023. As a crucial corridor for wildlife movement between different biomes, the state plays a pivotal role in maintaining biodiversity. Thus, implementing genomic surveillance can aid in identifying genetic interactions and gene flow between species, supporting conservation efforts, and preserving genetic integrity also considering that the Pantanal, one of the world’s largest tropical wetland areas, flourishes in Mato Grosso do Sul. In the context of the SARS-CoV-2 epidemic, the state has responded quickly by implementing various measures, such as social distancing, mask-use promotion, and localized lockdowns. Increased testing capacity and improved contact tracing efforts have also been essential [4]. Different variants, including variants of concern (VOCs), variants of interest (VOIs), and variants under monitoring (VUMs), have been identified in the state throughout the epidemic progression, [5]. However, the genomic diversity and the evolution dynamics of the SARS-CoV-2 Omicron wave in the state of Mato Grosso do Sul remain largely unknown. To address this gap, we conducted a collaborative study with the Central Public Health Laboratory in the capital city of Campo Grande. Our study involved portable whole-genome sequencing and phylodynamic analysis to investigate the spread and transmission patterns of the Omicron variant in the region. This research has provided insights into the expansion of this lineage in the state, revealing a complex transmission dynamic characterized by the co-circulation of different sublineages. In addition to shedding light on the Omicron variant, our study serves as a proof-of-concept for the value of portable sequencing technologies in local capacity building and public health efforts.

2. Materials and Methods

2.1. Sample Collection and Molecular Diagnostic Assays

Convenience clinical samples were collected between January and February 2022 from individuals suspected of SARS-CoV-2 infection and were included in our genomic surveillance framework for real-time monitoring of circulating SARS-CoV-2 variants in the region [5]. Nasopharyngeal swabs were utilized to extract viral RNA, which was subsequently subjected to analysis using the Charité SARS-CoV2 (E/RP) assay provided by Bio-Manguinhos. This assay specifically targeted the E gene and was made available by the Brazilian Ministry of Health (BrMoH) and the Pan-American Health Organization. The samples were collected for both diagnostic purposes and whole genome sequencing analysis.

2.2. cDNA Synthesis and Whole-Genome Sequencing

Samples were chosen for sequencing based on a Ct value (≤ 30) and the availability of epidemiological metadata, including the date of sample collection, sex, age, and municipality of residence. The SARS-CoV-2 genomic libraries were prepared using nanopore sequencing. Complementary DNA (cDNA) synthesis was performed using the SuperScript IV Reverse Transcriptase kit (Invitrogen, Waltham, MA, USA) following the manufacturer’s instructions. The generated cDNA underwent multiplex PCR sequencing using the Q5 High-Fidelity Hot-Start DNA Polymerase (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) and a set of specific

primers designed by the ARTIC Network for sequencing the complete SARS-CoV-2 genome (Artic Network version 3) (Quick, J, 2020). PCR conditions have been previously reported [3]. All experiments were conducted within a biosafety level 2 cabinet. Amplicons were purified using 1× AMPure XP beads (Beckman Coulter, Pasadena, CA, USA) and quantified with a Qubit 3.0 fluorimeter (ThermoFisher, Waltham, MA, USA) using the Qubit dsDNA HS assay kit (ThermoFisher). DNA library preparation was carried out using the ligation sequencing kit LSK109 (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK) and the native barcoding kit (NBD104 and NBD114, Oxford Nanopore Technologies). The prepared sequencing libraries were loaded onto an R9.4 flow cell (Oxford Nanopore Technologies). In each sequencing run, negative controls were included to prevent and detect possible contamination, with a mean coverage of less than 2%.

2.3. Generation of Consensus Sequences

The raw files from Oxford Nanopore sequencing were basecalled using Guppy v3.4.5, and barcode demultiplexing was conducted using qcat. Consensus sequences were then generated through de novo assembly using Genome Detective [6].

2.4. Phylogenetic Analysis

Lineage assignment was conducted using the Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak Lineages tool (PANGOLIN) [7]. The newly generated sequences from this study were compared to a diverse pool of 2986 genome sequences collected worldwide up until 2 June 2023. Due to the extensive amount of available data and the uneven distribution of strains from different regions, countries, and continents, we utilized the SubSampler tool, available at <https://github.com/andersonbrito/subsampler> (accessed on 10 July 2023), which enabled us to perform random subsampling of sequences per country based on case counts over the study period. By doing so, we ensured that our samples were geographically, temporally, and epidemiologically representative. Furthermore, the subsampling within this scheme was conducted using a baseline function, which allowed us to determine the proportion of cases we aimed to sample. This process was carefully designed to maintain the overall characteristics and diversity of the data while minimizing potential biases. All sequences were aligned using the ViralMSA tool [8] and the maximum likelihood approach was employed for phylogenetic analysis using IQ-TREE 2 [9]. To obtain a dated tree, TreeTime [10] was employed, employing a constant mean rate of 8.0×10^{-4} nucleotide substitutions per site per year, after removing outlier sequences.

2.5. Epidemiological Data Assessment

Data from weekly notified cases of infection, deaths, and hospitalization by SARS-CoV-2 in the state of Mato Grosso do Sul were supplied by the Brazilian Ministry of Health, as made available by the COVIDA network at <https://github.com/wcota/COVID19br> (accessed on 10 July 2023).

3. Results

The SARS-CoV-2 epidemic in the state of Mato Grosso do Sul consisted of four distinct main waves (Figure 1), resulting in over 613,000 thousand cases and 11 thousand deaths as of June 2023. The initial wave spanned from May 2020 to September 2020 and exhibited the circulation of various ancestral lineages (Figures 1 and 2) [3].

The second wave, which occurred from October 2020 to December 2020, was driven by the emergence and rapid spread of the P.2 (Zeta) variant under monitoring (VUM). In contrast, the third wave (December 2020 to May 2021) was primarily caused by the introduction of the Gamma (P.1) variant of concern (VOC), resulting in a significant increase in the number of reported cases and deaths in the country [11]. However, as the Delta VOC was introduced in late April 2021, the number of cases and deaths started to decline (Figure 1) [12]. Following these waves, the fourth major wave occurred in late November 2021 with the emergence of the Omicron variant as the newest VOC. Our data suggest

that the Omicron wave experienced a rapid peak followed by a swift decline, possibly indicating the successful impact of the vaccination program [13]. Additionally, the highly transmissible nature of the Omicron variant played a significant role in swiftly affecting a large portion of the susceptible population.

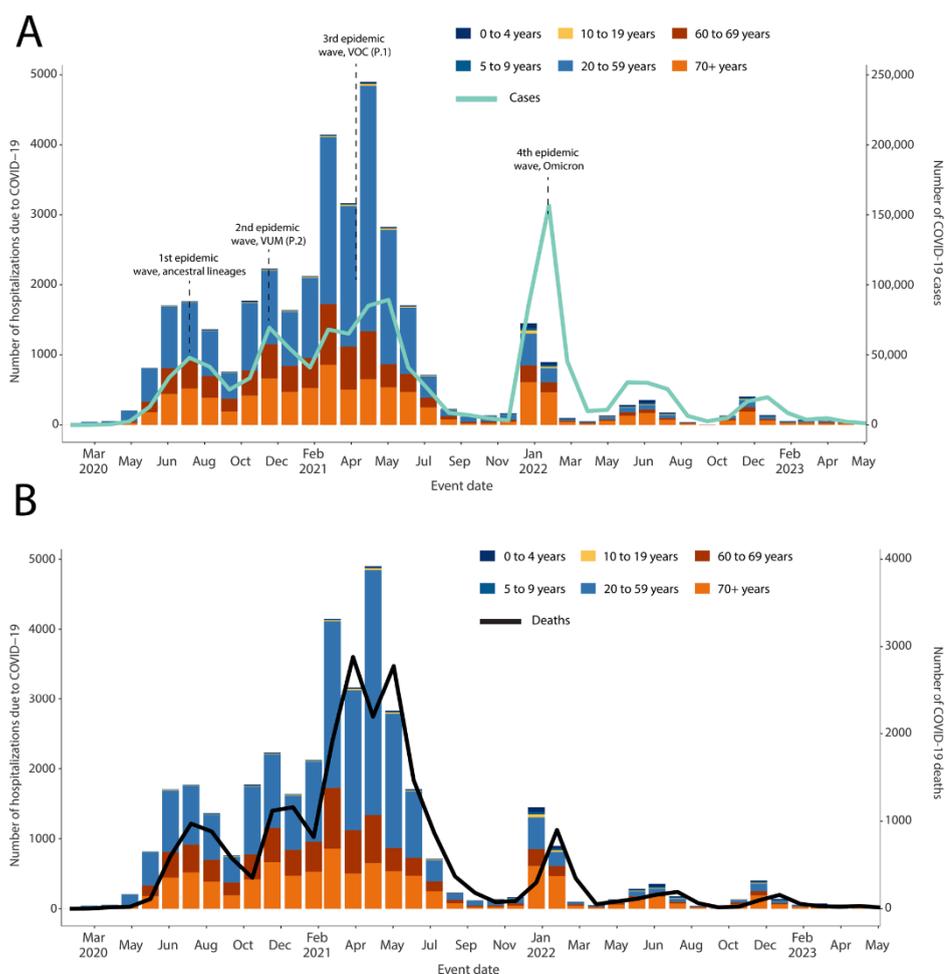


Figure 1. Dynamics of the SARS-CoV-2 epidemic in the state of Mato Grosso do Sul. (A) Number of daily COVID-19 cases and the number of hospitalization rates in time; (B) number of daily COVID-19 deaths and the number of hospitalization rates in time.

Furthermore, our analysis of the total number of cases, deaths, and COVID-19-related hospitalizations revealed that the age group between 20 and 59 years bore the highest disease burden from February to May 2021. This spike in cases coincided with the circulation of the Gamma variant, which overwhelmed healthcare facilities at both the national and regional levels, primarily impacting the susceptible population.

In order to retrospectively reconstruct the transmission dynamic of the Omicron variant in the state of Mato Grosso do Sul, a total of 69 near-full genome sequences were obtained from SARS-CoV-2 RT-qPCR positive samples as part of this study. The sequencing

spanned from January to February 2022, and samples were collected from 10 distinct cities across the state (Figure 2A).

These samples comprised 41 females and 28 males (Table 1), with a median age of 41.0 years (range: 11 to 91 years).

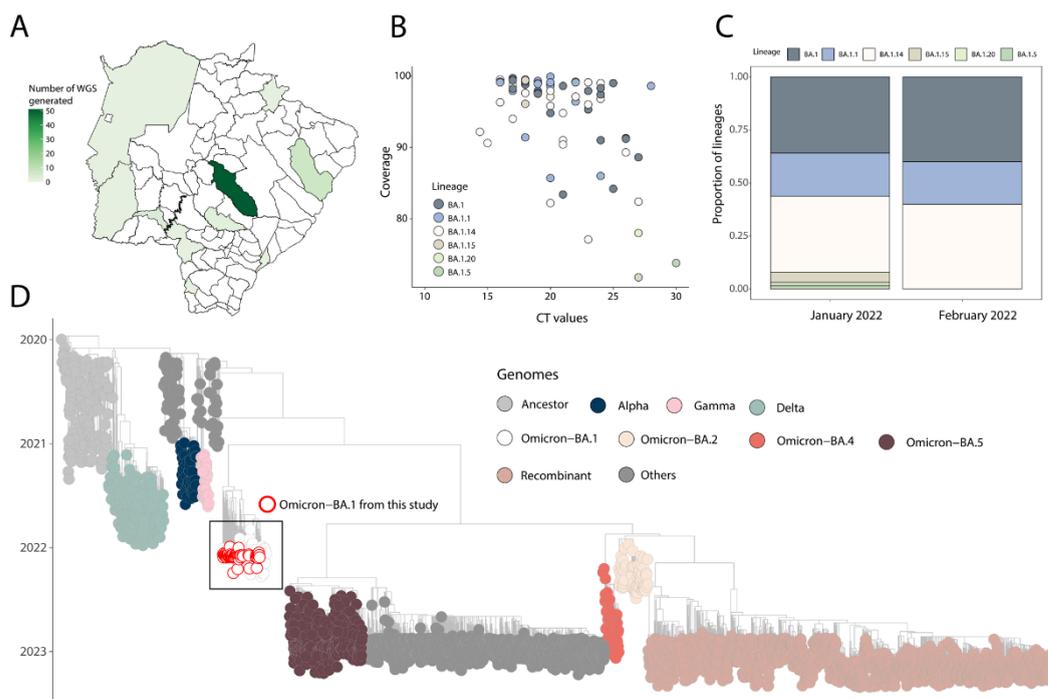


Figure 2. Genomics and epidemiological reconstruction of SARS-CoV-2 Omicron sublineages circulating in the state of Mato Grosso do Sul. **(A)** Spatial distribution of SARS-CoV-2 genomes obtained in this study; **(B)** SARS-CoV-2 sequencing statistics: percentage of SARS-CoV-2 genomes sequenced plotted against RT-qPCR Ct value for each sample ($n = 69$). Each circle represents a sequence recovered from an infected individual in Mato Grosso do Sul. Colored circles correspond to lineage assignment; **(C)** progressive distribution of SARS-CoV-2 BA.1 sublineages in the state of Mato Grosso do Sul over time; **(D)** time-resolved maximum-likelihood tree of SARS-CoV-2, including a representative worldwide subsample of genomes ($n = 2986$) collected up to 2 June 2023. The genomes are color-coded according to lineages (VOC and ancestral lineages) as indicated in the legend on the top right. The genome generated in this study is highlighted in the tree with a white fill and a red circle.

Table 1. Epidemiological data the 69 SARS-CoV-2 samples sequenced as part of this study.

ID	CT	State	Collection Date	Sex	Age	Reads	Coverage	Depth of Coverage	Lineage	Accession ID
LIBSARSMS2_barcode12 2022-01-24	23	MS	24 January 2022	M	48	60,759	99.1	1104	BA.1.14	EPI_ISL_17885390
LIBSARSMS2_barcode16 2022-02-11	21	MS	28 January 2022	F	57	7159	91	141.7	BA.1.14	EPI_ISL_17885391
LIBSARSMS2_barcode17 2022-01-27	25	MS	27 January 2022	F	43	91,596	99	1666.2	BA.1	EPI_ISL_17885392
LIBSARSMS2_barcode19 2022-01-24	21	MS	25 January 2022	F	11	103,201	98.6	1885.8	BA.1	EPI_ISL_17885393
LIBSARSMS2_barcode20 2022-01-25	27	MS	25 January 2022	M	13	3271	71.8	79.4	BA.1.15	EPI_ISL_17885394
LIBSARSMS2_barcode21 2022-01-25	27	MS	25 January 2022	M	34	5427	82.4	119.8	BA.1.14	EPI_ISL_17885395
LIBSARSMS2_barcode22 2022-01-25	18	MS	25 January 2022	F	18	138,324	98.8	2606.4	BA.1	EPI_ISL_17885396
LIBSARSMS2_barcode23 2022-01-25	24	MS	25 January 2022	F	25	15,665	91	349.3	BA.1	EPI_ISL_17885397
LIBSARSMS2_barcode25 2022-01-27	18	MS	26 January 2022	F	20	82,194	96.1	1525.3	BA.1.15	EPI_ISL_17885398
LIBSARSMS2_barcode26 2022-01-26	23	MS	26 January 2022	F	74	54,957	95.3	1037	BA.1	EPI_ISL_17885399
LIBSARSMS2_barcode27 2022-01-28	22	MS	27 January 2022	M	52	69,658	99.2	1261.8	BA.1.14	EPI_ISL_17885400
LIBSARSMS2_barcode28 2021-12-29	24	MS	27 January 2022	M	54	63,882	99	1162.4	BA.1.14	EPI_ISL_17885401
LIBSARSMS2_barcode29 2022-02-03	24	MS	26 January 2022	F	61	36,138	96.8	672.6	BA.1.14	EPI_ISL_17885402
LIBSARSMS2_barcode30 2022-02-04	25	MS	26 January 2022	F	57	6383	84.2	135.5	BA.1	EPI_ISL_17885403
LIBSARSMS2_barcode32 2022-02-04	27	MS	26 January 2022	M	37	8017	88.6	157.5	BA.1	EPI_ISL_17885404
LIBSARSMS2_barcode34 2022-01-20	21	MS	26 January 2022	M	24	15,481	83.4	331.3	BA.1	EPI_ISL_17885405
LIBSARSMS2_barcode35 2022-02-03	20	MS	26 January 2022	M	34	47,285	97.9	870.2	BA.1	EPI_ISL_17885406
LIBSARSMS2_barcode36 2022-02-03	19	MS	26 January 2022	M	35	58,617	97.9	1082.5	BA.1	EPI_ISL_17885407
LIBSARSMS2_barcode37 2022-02-03	17	MS	26 January 2022	F	37	199,034	99.7	3576.7	BA.1	EPI_ISL_17885408
LIBSARSMS2_barcode38 2022-02-03	20	MS	26 January 2022	M	53	85,187	98.8	1561.2	BA.1	EPI_ISL_17885409
LIBSARSMS2_barcode39 2022-01-31	27	MS	27 January 2022	F	20	2722	78	60.3	BA.1.20	EPI_ISL_17885410
LIBSARSMS2_barcode41 2022-02-04	21	MS	27 January 2022	F	54	78,674	94.8	1483.9	BA.1.14	EPI_ISL_17885411
LIBSARSMS2_barcode42 2022-02-04	17	MS	27 January 2022	F	37	77,568	97.9	1429.8	BA.1.1	EPI_ISL_17885412
LIBSARSMS2_barcode43 2022-02-04	26	MS	27 January 2022	F	54	12,672	91.3	248.5	BA.1	EPI_ISL_17885413
LIBSARSMS2_barcode44 2022-02-04	18	MS	27 January 2022	M	21	164,942	99.5	2957.3	BA.1.1	EPI_ISL_17885414
LIBSARSMS2_barcode45 2022-02-04	17	MS	27 January 2022	M	19	141,215	99.5	2541.5	BA.1.14	EPI_ISL_17885415
LIBSARSMS2_barcode46 2022-02-04	20	MS	27 January 2022	M	64	112,016	99.9	2027.6	BA.1.1	EPI_ISL_17885416
LIBSARSMS2_barcode47 2022-03-17	20	MS	28 January 2022	M	57	23,799	95.8	446.7	BA.1.14	EPI_ISL_17885417
LIBSARSMS2_barcode48 2022-01-29	19	MS	28 January 2022	F	19	166,009	99.3	2998.2	BA.1.1	EPI_ISL_17885418
LIBSARSMS2_barcode49 2022-01-27	18	MS	27 January 2022	F	65	20,051	91.4	398.1	BA.1.1	EPI_ISL_17885419
LIBSARSMS2_barcode50 2022-01-27	19	MS	27 January 2022	F	31	121,892	99	2209.4	BA.1.14	EPI_ISL_17885420
LIBSARSMS2_barcode51 2022-01-27	17	MS	27 January 2022	F	54	188,893	98.7	3464.9	BA.1.14	EPI_ISL_17885421
LIBSARSMS2_barcode52 2022-01-27	18	MS	27 January 2022	M	24	81,577	99.5	1477.2	BA.1	EPI_ISL_17885422
LIBSARSMS2_barcode53 2022-01-27	18	MS	27 January 2022	F	36	160,723	99.2	2908.4	BA.1	EPI_ISL_17885423

Table 1. Cont.

ID	CT	State	Collection Date	Sex	Age	Reads	Coverage	Depth of Coverage	Lineage	Accession ID
LIBSARMS2_barcode55 2022-01-27	19	MS	27 January 2022	M	43	28,809	97.6	533.8	BA.1	EPI_ISL_17885424
LIBSARMS2_barcode56 2022-01-27	16	MS	27 January 2022	M	42	54,509	96.3	1005.8	BA.1.14	EPI_ISL_17885425
LIBSARMS2_barcode57 2022-01-27	19	MS	27 January 2022	M	35	64,896	97.5	1187.5	BA.1	EPI_ISL_17885426
LIBSARMS2_barcode58 2022-01-21	20	MS	28 January 2022	F	31	68,573	94.8	1309.9	BA.1	EPI_ISL_17885427
LIBSARMS2_barcode59 2022-01-28	20	MS	28 January 2022	M	37	77,921	97.1	1436.8	BA.1.14	EPI_ISL_17885428
LIBSARMS2_barcode60 2022-01-25	30	MS	25 January 2022	F	32	1494	73.8	33.8	BA.1.5	EPI_ISL_17885429
LIBSARMS2_barcode61 2022-01-31	18	MS	31 January 2022	F	65	180,831	99.4	3270.9	BA.1.15	EPI_ISL_17885430
LIBSARMS2_barcode62 2022-01-28	24	MS	28 January 2022	F	16	36,276	97.4	674.6	BA.1	EPI_ISL_17885431
LIBSARMS2_barcode63 2022-01-27	19	MS	27 January 2022	F	62	74,361	98.9	1364.4	BA.1.1	EPI_ISL_17885432
LIBSARMS2_barcode65 2022-01-27	28	MS	28 January 2022	F	60	198,829	98.6	3652.5	BA.1.1	EPI_ISL_17885433
LIBSARMS2_barcode66 2022-02-02	23	MS	2 February 2022	F	14	13,165	77.1	312.2	BA.1.14	EPI_ISL_17885434
LIBSARMS2_barcode67 2022-02-02	23	MS	2 February 2022	M	39	33,181	97.9	611.9	BA.1	EPI_ISL_17885435
LIBSARMS2_barcode68 2022-01-18	20	MS	31 January 2022	F	30	11,165	85.7	234.2	BA.1.1	EPI_ISL_17885436
LIBSARMS2_barcode69 2022-03-15	16	MS	30 January 2022	M	27	266,105	99.5	4833.1	BA.1.14	EPI_ISL_17885437
LIBSARMS2_barcode70 2022-03-13	20	MS	30 January 2022	F	26	112,571	98.6	2052.6	BA.1.1	EPI_ISL_17885438
LIBSARMS2_barcode71 2022-02-07	20	MS	31 January 2022	F	91	209,974	99.1	3941.7	BA.1.1	EPI_ISL_17885439
LIBSARMS2_barcode72 2022-03-31	15	MS	31 January 2022	F	91	35,836	90.6	712.6	BA.1.14	EPI_ISL_17885440
LIBSARMS2_barcode73 2022-01-31	24	MS	31 January 2022	M	79	27,752	86	578.3	BA.1.1	EPI_ISL_17885441
LIBSARMS2_barcode74 2022-01-31	17	MS	30 January 2022	M	23	76,270	94	1467	BA.1.14	EPI_ISL_17885442
LIBSARMS2_barcode76 2022-01-24	20	MS	1 February 2022	F	39	20,573	82.2	452.5	BA.1.14	EPI_ISL_17885443
LIBSARMS2_barcode78 2022-02-04	16	MS	1 February 2022	F	29	177,714	99.2	3249.3	BA.1	EPI_ISL_17885444
LIBSARMS2_barcode79 2022-02-04	22	MS	1 February 2022	F	23	14,615	96.4	272.6	BA.1.1	EPI_ISL_17885445
LIBSARMS2_barcode80 2022-01-29	21	MS	29 January 2022	F	52	11,173	90.4	221	BA.1.14	EPI_ISL_17885446
LIBSARMS2_barcode81 2022-01-29	24	MS	29 January 2022	M	62	41,745	98.3	763.3	BA.1	EPI_ISL_17885447
LIBSARMS2_barcode82 2022-01-29	26	MS	29 January 2022	F	63	13,046	89.3	264.1	BA.1.14	EPI_ISL_17885448
LIBSARMS2_barcode83 2022-01-29	22	MS	29 January 2022	F	49	35,076	99.1	631.7	BA.1.1	EPI_ISL_17885449
LIBSARMS2_barcode84 2022-01-29	17	MS	29 January 2022	M	34	218,985	98.2	3999.7	BA.1	EPI_ISL_17885450
LIBSARMS2_barcode86 2022-01-29	23	MS	29 January 2022	F	51	16,567	96	312.1	BA.1.14	EPI_ISL_17885451
LIBSARMS2_barcode87 2022-01-29	10	MS	29 January 2022	M	39	11,270	88.6	224.4	BA.1.14	EPI_ISL_17885452
LIBSARMS2_barcode88 2022-01-29	18	MS	29 January 2022	M	19	60,836	97.6	1112	BA.1.14	EPI_ISL_17885453
LIBSARMS2_barcode90 2022-01-29	17	MS	29 January 2022	F	22	225,902	99.4	4159.7	BA.1	EPI_ISL_17885454
LIBSARMS2_barcode91 2022-01-29	26	MS	29 January 2022	F	27	24,272	91.2	471.3	BA.1	EPI_ISL_17885455
LIBSARMS2_barcode93 2022-01-29	20	MS	29 January 2022	M	55	66,819	97.9	1331.5	BA.1.14	EPI_ISL_17885456
LIBSARMS2_barcode94 2022-01-18	16	MS	29 January 2022	F	30	203,956	99.1	4029.9	BA.1.1	EPI_ISL_17885457
LIBSARMS2_barcode95 2022-01-01	22	MS	29 January 2022	F	40	20,911	97.1	389.3	BA.1.14	EPI_ISL_17885458

All tested samples contained sufficient viral genetic material (≥ 2 ng/ μ L) for library preparation. The average PCR cycle threshold (Ct) value for positive samples was 20.75 (range: 10 to 30). Sequences had a median genome coverage of 94% (range: 72 to 99.99), with samples that had lower Ct values generally exhibiting higher average genome coverage (Figure 2B). Detailed epidemiological information and sequencing statistics of the generated sequences can be found in Table 1. Based on the proposed dynamic nomenclature for SARS-CoV-2 lineages, the sequences were assigned to six different Omicron BA.1 PANGO-lineages (Figure 2C and Table 1). Novel genome sequences have been submitted to GISAID following the WHO guidelines (Table 1) (version 4.2). Phylogenetic inference, combining our novel isolates with a representative dataset available on GISAID (<https://www.gisaid.org/>) up to 2 June 2023, revealed that the newly obtained genomes belong to different SARS-CoV-2 Omicron BA.1 sublineages (Figure 2D), which were interspersed with those introduced from several countries (Figure 2D). This pattern indicates multiple introduction events highlighting how critical integrating genome sequence with human mobility data will be to promptly reconstruct and track the transmission dynamics of those emerging strains. (Figures 1 and 2).

4. Discussion

Genomic surveillance is of pivotal importance in monitoring SARS-CoV-2 variants and informing public health responses. Variants of concern (VOCs) have had a significant impact on the severity of COVID-19, therapeutic approaches, and vaccination efforts [3,14–17]. These variants are characterized by increased transmissibility and the potential to affect disease severity. Specific mutations, such as N501Y and E484K, have been identified as contributing to enhanced transmissibility and immune evasion. Therefore, continuous monitoring and regular updates in therapeutic strategies are essential to effectively address these evolving variants.

To assess the impact of the Omicron variant in Mato Grosso do Sul, a state located in the Midwest region of Brazil, we conducted on-site training in genomic surveillance in collaboration with the state's Public Health Laboratory. Through this collaboration, we were able to generate 69 newly SARS-CoV-2 complete genome sequences. Our analysis revealed four waves of the SARS-CoV-2 epidemic in the state, with each wave characterized by the circulation and replacement of different viral strains [11,17]. Consistent with previous findings, the Gamma variant was associated with a significant increase in reported cases and deaths in the state, particularly among individuals aged 20–59 (Figure 1).

Our data demonstrated that the emergence of the Omicron variant coincided with the fourth major wave, exhibiting a distinct pattern of a rapid peak followed by a swift decline (Figure 1). This trend can be attributed to several factors. The vaccination program played a crucial role in reducing illness severity and transmission, as a significant portion of the population had received vaccination doses by the time the Omicron variant emerged. The highly transmissible nature of the Omicron variant contributed to exponential growth in cases, but the number of susceptible individuals decreased due to vaccination or prior infection [18].

Genomic monitoring in our study additionally identified distinct Omicron sublineages (Table 1 and Figure 2), indicating complex transmission dynamics influenced by the co-circulation of multiple viral strains. Human mobility played a significant role in the dissemination of these sublineages, facilitated by Mato Grosso do Sul's geographical location as a border region and active trade and travel routes [19]. Understanding the impact of human mobility on variant introduction and dissemination is crucial for effective public health interventions.

In conclusion, this study emphasizes the significance of genomic monitoring in comprehending the transmission dynamics of emerging variants. Further advancement in the field of genomic surveillance necessitates investigation in several areas and should focus on long-term genomic monitoring to track the evolutionary trajectory and potential changes in viral genetic characteristics. Comparative genomic analyses across different regions and countries will also be crucial to identify geographic-specific patterns and inform targeted public health interventions. Exploring the role of host genetic factors and their interplay

with viral evolution will further enhance our understanding of susceptibility, disease severity, and vaccine response. Lastly, expanding genomic surveillance to include animal hosts and environmental samples in a One Health approach can facilitate early detection and response to zoonotic transmission.

Author Contributions: Conceptualization: M.G., L.C.J.A. and C.C.M.G.; methodology: L.d.M.A.M., M.G., V.F., M.C.S.U.Z., G.G.d.C.L., G.R.d.R.R., L.D.C., V.C.E., K.F.B., D.G.M.T., J.X., H.F., M.L., C.d.O., E.V.S., D.F.R.F., D.H.T., R.F.d.C.S., A.R., L.H.D., L.C.J.A. and C.C.M.G.; validation: M.G. and V.F.; formal analysis: L.d.M.A.M., M.G. and V.F.; investigation: L.d.M.A.M., M.G., V.F., M.C.S.U.Z., G.G.d.C.L., G.R.d.R.R., L.D.C., V.C.E., K.F.B., S.K., J.C., D.G.M.T., J.X., H.F., M.L., C.d.O., E.V.S., D.F.R.F., D.H.T., R.F.d.C.S., A.R., L.H.D., L.C.J.A. and C.C.M.G.; resources: L.C.J.A.; data curation: M.G. and V.F.; writing—original draft preparation: L.d.M.A.M., M.G., L.C.J.A. and C.C.M.G.; writing—review and editing: L.d.M.A.M., M.G., V.F., M.C.S.U.Z., G.G.d.C.L., G.R.d.R.R., L.D.C., V.C.E., K.F.B., S.K., D.G.M.T., J.C., J.X., H.F., M.L., C.d.O., E.V.S., D.F.R.F., D.H.T., R.F.d.C.S., A.R., L.H.D., L.C.J.A. and C.C.M.G.; visualization: M.G. and V.F.; supervision: L.C.J.A. and C.C.M.G.; funding acquisition: L.C.J.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by National Institutes of Health USA grant U01 AI151698 for the United World Arbovirus Research Network (UWARN) and in part by the CRP- ICGEB RESEARCH GRANT 2020 Project CRP/BRA20-03, Contract CRP/20/03.

Institutional Review Board Statement: This research received ethical approval from the Ethics Review Committee of the Pan-American Health Organization (PAHOERC.0344.01) and the Federal University of Minas Gerais (CEP/CAAE: 32912820.6.1001.5149).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Newly generated SARS-CoV2-sequences have been deposited in GISAID under accession numbers EPI_ISL_17885390 and EPI_ISL_17885458. All inputs and codes used in this study were made available in main text and on the project GitHub repository: https://github.com/genomicsurveillance/omicron_mato_grosso_do_sul/tree/main (accessed on 10 July 2023).

Acknowledgments: M.G. is funded by PON “Ricerca e Innovazione” 2014–2020.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Chan, J.F.; Yuan, S.; Kok, K.H.; To, K.K.; Chu, H.; Yang, J.; Xing, F.; Liu, J.; Yip, C.C.; Poon, R.W.; et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: A study of a family cluster. *Lancet* **2020**, *395*, 514–523. [CrossRef] [PubMed]
- Croda, J.H.R.; Garcia, L.P. Immediate Health Surveillance Response to COVID-19 Epidemic. *Epidemiol. Serv. Saude* **2020**, *29*, e20200002. [CrossRef] [PubMed]
- Giovanetti, M.; Slavov, S.N.; Fonseca, V.; Wilkinson, E.; Tegally, H.; Patané, J.S.L.; Viala, V.L.; San, E.J.; Rodrigues, E.S.; Santos, E.V.; et al. Genomic epidemiology of the SARS-CoV-2 epidemic in Brazil. *Nat. Microbiol.* **2022**, *7*, 1490–1500. [CrossRef] [PubMed]
- Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul. Epidemiological Report from the State of Mato Grosso do Sul. SES MS. 2020. Available online: <https://www.saude.ms.gov.br/> (accessed on 10 July 2023).
- Iosta, S.; Moreno, K.; Schuab, G.; Fonseca, V.; Segovia, E.M.C.; Kashima, S.; Elias, M.C.; Sampaio, S.C.; Ciccozzi, M.; Alcantara, L.C.J.; et al. Global SARS-CoV-2 genomic surveillance: What we have learned (so far). *Infect. Genet. Evol.* **2023**, *108*, 105405. [CrossRef] [PubMed]
- Vilsker, M.; Moosa, Y.; Nooij, S.; Fonseca, V.; Ghysens, Y.; Dumon, K.; Pauwels, R.; Alcantara, L.C.; Vanden Eynden, E.; Vandamme, A.-M.; et al. Genome Detective: An automated system for virus identification from high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* **2019**, *35*, 871–873. [CrossRef] [PubMed]
- Rambaut, A.; Holmes, E.C.; O’Toole, Á.; Hill, V.; McCrone, J.T.; Ruis, C.; du Plessis, L.; Pybus, O.G. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat. Microbiol.* **2020**, *5*, 1403–1407. [CrossRef] [PubMed]
- Li, H. Minimap2: Pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics* **2018**, *34*, 3094–3100. [CrossRef] [PubMed]
- Minh, B.Q.; Schmidt, H.A.; Chernomor, O.; Schrempf, D.; Woodhams, M.D.; von Haeseler, A.; Lanfear, R. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Mol. Biol. Evol.* **2020**, *37*, 1530–1534, Erratum in *Mol. Biol. Evol.* **2020**, *37*, 2461. [CrossRef] [PubMed]
- Sagulenko, P.; Puller, V.; Neher, R.A. TreeTime: Maximum-likelihood phylodynamic analysis. *Virus Evol.* **2018**, *4*, vex042. [CrossRef] [PubMed]

11. Faria, N.R.; Mellan, T.A.; Whittaker, C.; Claro, I.M.; Candido, D.D.S.; Mishra, S.; Crispim, M.A.E.; Sales, F.C.S.; Hawryluk, I.; McCrone, J.T.; et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science* **2021**, *372*, 815–821. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Giovanetti, M.; Cella, E.; Benedetti, F.; Magalis, B.R.; Fonseca, V.; Fabris, S.; Campisi, G.; Ciccozzi, A.; Angeletti, S.; Borsetti, A.; et al. SARS-CoV-2 shifting transmission dynamics and hidden reservoirs potentially limit efficacy of public health interventions in Italy. *Commun. Biol.* **2021**, *4*, 489. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Vitiello, A.; Ferrara, F.; Troiano, V.; La Porta, R. COVID-19 vaccines and decreased transmission of SARS-CoV-2. *Inflammopharmacology* **2021**, *29*, 1357–1360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Thakur, S.; Sasi, S.; Pillai, S.G.; Nag, A.; Shukla, D.; Singhal, R.; Phalke, S.; Velu, G.S.K. SARS-CoV-2 Mutations and Their Impact on Diagnostics, Therapeutics and Vaccines. *Front. Med.* **2022**, *9*, 815389. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Khateeb, J.; Li, Y.; Zhang, H. Emerging SARS-CoV-2 variants of concern and potential intervention approaches. *Crit. Care* **2021**, *25*, 244. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Resende, P.C.; Gräf, T.; Paixão, A.C.D.; Appolinario, L.; Lopes, R.S.; Mendonça, A.C.d.I.; da Rocha, A.S.B.; Motta, I.C.; Neto, L.G.L.; Khouri, R.; et al. A Potential SARS-CoV-2 Variant of Interest (VOI) Harboring Mutation E484K in the Spike Protein Was Identified within Lineage B.1.1.33 Circulating in Brazil. *Viruses* **2021**, *13*, 724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Naveca, F.G.; Nascimento, V.; de Souza, V.C.; Corado, A.d.L.; Nascimento, F.; Silva, G.; Costa, Á.; Duarte, D.; Pessoa, K.; Mejía, M.; et al. COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P.1 emergence. *Nat. Med.* **2021**, *27*, 1230–1238. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Andrews, N.; Stowe, J.; Kirscomb, F.; Toffa, S.; Rickcard, T.; Gallagher, E.; Gower, C.; Kall, M.; Groves, N.; O'Connell, A.-M.; et al. COVID-19 Vaccine Effectiveness against the Omicron (B.1.1.529) Variant. *N. Engl. J. Med.* **2022**, *386*, 1532–1546. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Leiva, G.D.C.; Dos Reis, D.S.; Filho, R.D.O. Estrutura urbana e mobilidade populacional: Implicações para o distanciamento social e disseminação da COVID-19. *Rev. Bras. Estud. Popul.* **2020**, *37*, e0118. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

6. CONCLUSÃO

A vigilância genômica é uma ferramenta indispensável no monitoramento das variantes do Sars-CoV-2 e na preparação de respostas oportunas em Saúde Pública uma vez que têm a capacidade de identificar fatores relacionados à transmissibilidade e potencial gravidade da doença.

Com base no sequenciamento completo do genoma do Sars-CoV-2 no estado do Mato Grosso do Sul detectou-se 4 principais ondas de casos de COVID-19. Sendo a primeira onda (maio a setembro de 2020) caracterizada por linhagens ancestrais. A segunda onda (outubro a dezembro de 2020) com identificação da variante P.2 (zeta). Na terceira onda (dezembro de 2020 a maio de 2021) em que houve a introdução da variante P.1 (gama) e a quarta grande onda (final de dezembro de 2021 a março de 2022) representada graficamente por um rápido pico e declínio, ocasionada pela variante ômicron.

A análise filogenética revelou que os genomas encontrados pertenciam a diferentes sublinhagens Ômicron BA.1 que foram intercaladas com as identificadas em outros países no mesmo período. As 69 amostras sequenciadas pertenciam aos seguintes municípios: Campo Grande, Corumbá, Jardim, Porto Murtinho, Rio Brillhante, Três Lagoas, Ponta Porã, Costa Rica, Taquarussu e Coronel Sapucaia.

No período de coleta das amostras sequenciadas no estudo (janeiro e fevereiro de 2022) havia predominância na circulação das seguintes sublinhagens BA.1 do Sars-CoV-2: BA.1, BA.1.1, BA.1.14, BA.1.15, BA.1.20, BA.1.5.

O monitoramento genômico indicou dinâmicas de transmissão complexas influenciadas pela co-circulação de múltiplas cepas virais. A mobilidade humana desempenhou papel significativo na disseminação das sublinhagens favorecida pela localização geográfica do Estado que possui fronteiras secas com dois países, além de ser rota comercial e de viagens.

Mutações do vírus foram identificadas como fatores que contribuem para maior disseminação, transmissão e evasão imunológica demonstrando a importância de revisões terapêuticas periódicas e monitoramento das variantes em evolução.

A estratégia bem sucedida do programa de vacinação desempenhou um papel importante na redução dos casos graves, transmissão da doença e duração da onda no momento em que a variante Ômicron surgiu no Estado.

A pandemia da COVID-19 não será a última emergência de saúde enfrentada

pela humanidade. A ameaça de novas pandemias a curto e médio prazo é alta em decorrência do surgimento de novas variantes. Para nos prepararmos melhor para o futuro, é fundamental que aprendamos com os desafios e lições desta crise global. Gradativamente, detectamos áreas em que devemos estar melhor preparados para enfrentar futuras emergências de saúde com eficiência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Al-Omari A, Rabaan AA, Salih S, Al-Tawfiq JA, Memish ZA. MERS coronavirus outbreak: Implications for emerging viral infections. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. 1º de março de 2019;93(3):265–85.
2. An evidence review of face masks against COVID-19 | **PNA**, 2022. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2014564118>
3. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. **Nat Med**. abril de 2020;26(4):450–2.
4. Böger, B. et al. Systematic review with meta-analysis of the accuracy of diagnostic tests for COVID-19. *American Journal of Infection Control*, v. 49, n. 1, p. 21-29, 2021.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria MS/GM nº 188, de 3 de fevereiro de 2020. **Declara Emergência em Saúde Pública de importância Nacional (ESPIN) em decorrência da Infecção Humana pelo novo Coronavírus (2019-nCoV)**. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2020.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância Genômica do Vírus Sars-CoV-2 no âmbito da SVS/MS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia para Uso do Antiviral Nirmatrelvir/Ritonavir em Pacientes com Covid-19, Não Hospitalizados e de Alto Risco: Sistema Único de Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2022.
8. Candido DDS, Watts A, Abade L, Kraemer MUG, Pybus OG, Croda J, et al. Routes for COVID-19 importation in Brazil. **JTravel Med**, v. 27, n.3,2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/jtm/article/27/3/taaa042/5809508>
9. Candido DS, Claro IM, de Jesus JG, Souza WM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. **Science**, 2020.
10. Carabelli AM, Peacock TP, Thorne LG, Harvey WT, Hughes J; COVID-19 Genomics UK Consortium; Peacock SJ, Barclay WS, de Silva TI, Towers GJ, Robertson DL. SARS-CoV-2 variant biology: immune escape, transmission and fitness. *Nat Rev Microbiol*. 2023 Mar;21(3):162-177. doi: 10.1038/s41579-022-00841-7. Epub 2023 Jan 18. PMID: 36653446; PMCID: PMC9847462.
11. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). Em: **Stat Pearls**, 2022. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
12. Center for Disease Control and Prevention (USA). Departamento f Health & Human Services. CDC Museum COVID-19 Timeline, 2020.

13. Chan, J. F. *et al.* Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, n. 1, p. 221-236, 2020.
14. Changes in contact patterns shape the dynamics of the COVID-19 outbreak in China. **Science**, 2022. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abb8001>
15. Chavda, V. P.; PATEL, A. B.; Vaghasiya, D. D. SARS-CoV-2 variants and vulnerability at the global level. **Journal of Medical Virology**, v. 94, n. 7, 2022.
16. Corman VM, Muth D, Niemeyer D, Drosten C. Chapter Eight - Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. Em: Kielian M, Mettenleiter TC, Roossinck MJ, organizadores. **Advances in Virus Research**, p. 163–88, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065352718300010>
17. Canadian Institute for Health Information. **COVID-19 hospitalization and emergency department statistics**, CIHI, 2022. Disponível em: <https://www.cihi.ca/en/covid-19-hospitalization-and-emergency-department-statistics>
18. Cov-Lineages. **Pango Lineages: Latest epidemiological lineages of SARS-CoV-2**. [acessado em 22 de abril de 2024]. Disponível em: <https://cov-lineages.org/lineage.html?lineage=B.1.1.529>
19. Croda, J. H. R.; Garcia, L. P. Immediate Health Surveillance Response to COVID-19 Epidemic. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, n. 1, p. 1-3, 2020.
20. Davis-Gardner, M. E. et al. Neutralization against BA.2.75.2, BQ.1.1, and XBB from mRNA Bivalent Booster. **The New England Journal of Medicine**, v. 388, n. 2, p. 183-185, 2023.
21. Day M. Covid-19: four fifths of cases are asymptomatic, China figures indicate. **BMJ**, 2020.
22. Dhiraj Mannar et al. SARS-CoV-2 Omicron variant: Antibody evasion and cryo-EM structure of spike protein – ACE2 complex **Science** 75,760-764(2022).DOI:10.1126/science.abn7760
23. **Diário Oficial Eletrônico**, Nº 10.382/2021. [acessado em 20 de abril de 2024] Disponível em: https://www.spdo.ms.gov.br/diariodoe/Index/Download/DO10382_19_01_2021
24. de Oliveira LA, de Rezende IM, Navarini VJ, Marchioro SB, Torres AJL, Croda J, Croda MG, Gonçalves CCM, Xavier J, de Castro E, Lima M, Iani F, Adelino T, Aburjaile F, Ferraz Demarchi LH, Taira DL, Zardin MCSU, Fonseca V, Giovanetti M, Andrews J, Alcantara LCJ, Simionatto S. Genomic characterization of SARS-CoV-2 from an indigenous reserve in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Frontiers in Public Health**, 2023.

25. Dessie ZG, Zewotir T. Mortality-related risk factors of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of 42 studies and 423,117 patients. **BMC Infectious diseases**, v. 21, n. 1, 2021.
26. Giovanetti, M. *et al.* Genomic epidemiology of the SARS-CoV-2 epidemic in Brazil. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, p. 1490–1500, 2022.
27. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nat Microbiol**, v. 5, n. 4, p. 536-544, 2020.
28. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. **Nat Med**, v.26, n. 7, p. 1017-1032, 2020.
29. Hamre D, Procknow JJ. A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract. **Experimental Biology and Medicine**, v. 121, n.1, p. 190-193, 1966.
30. Handwashing an effective tool to prevent COVID-19, **other diseases**, 2022. Disponível em:
<https://www.who.int/southeastasia/news/detail/15-10-2020-handwashing-an-effective-tool-to-prevent-covid-19-other-diseases>
31. Histórico da pandemia de COVID-19 - OPAS/OMS | **Organização Pan-Americana da Saúde**, 2022. Disponível em:
<https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>
32. Huang, C. et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. **Lancet**, v. 397, p. 220-32, 2021.
33. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome **NEJM**, 2022. Disponível em:
<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa030747>
34. Imai, M. et al. Efficacy of Antiviral Agents against Omicron Subvariants BQ.1.1 and XBB. **The New England Journal of Medicine**, v. 388, n. 1, p. 89-91, 2023.
35. Jansen L, Tegomoh B, Lange K, Showalter K, Figliomeni J, Abdalhamid B, Iwen PC, Fauver J, Buss B, Donahue M. Investigation of a SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) Variant Cluster - Nebraska, November-December, 2021. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 70, n. 5152, p. 1782-1784, 2021.
36. King AM, Lefkowitz E, Adams MJ, Carstens EB. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Elsevier**, p.1462, 2011.
37. Koc, H. C. et al. Long COVID and its Management. **International Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 12, p. 4768-4780, 2022.
38. Kotlyar AM, Grechukhina O, Chen A, Popkhadze S, Grimshaw A, Tal O, et al.

Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. **Am J Obstet Gynecol**, v. 224, n. 1, p. 35-53, 2021.

39. Kronbichler A, Kresse D, Yoon S, Lee KH, Effenberger M, Shin JI. Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 98, p. 180-186, 2020.

40. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S, et al. A Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome. **NEJM**, v. 348, n. 20, p. 1953-1966, 2003.

41. Lazar Neto F, Hitchings MDT, Amin AB, de França GVA, Lind ML, Scaramuzzini Torres MS, Tsuha DH, de Oliveira RD, Cummings DAT, Dean NE, Andrews JR, Ko AI, Croda J, Ranzani OT. Effectiveness of the fourth dose of COVID-19 vaccines against severe COVID-19 among adults 40 years or older in Brazil: a population-based cohort study. **The Lancet Regional Health – Americas**, v. 34, n. 3, 2024.

42. Lima ARJ, Ribeiro G, Viala VL, de Lima LPO, Martins AJ, Barros CRDS, Marqueze EC, Bernardino JST, Moretti DB, Rodrigues ES, Santos EV, Brassaloti RA, Cassano RLRC, Mariani PDSC, Clemente LG, Assato PA, Costa FADSD, Poleti MD, Lesbon JCC, Mattos EC, Banho CA, Sacchetto L, Moraes MM, Palmieri M, Martininghi M, Caldeira LAV, Silva FEVD, Grotto RMT, Souza-Neto JA, Giovanetti M, Junior Alcantara LC, Nogueira ML, Fukumasu H, Coutinho LL, Kashima S, Neto RM, Covas DT, Slavov SN, Sampaio SC, Elias MC. SARS-COV-2 genomic monitoring in the state of São Paulo unveils two emerging AY.43 sublineages. **J Med Virol.**, 2022

43. Lotfi, M.; Hamblin, M. R.; Rezaei, N. COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. **Clinica Chimica Acta**, v. 508, p. 254-266, 2020.

44. Mackay IM, Arden KE. MERS coronavirus: diagnostics, epidemiology and transmission. **Virology Journal**, v. 12, n. 1, p. 222, 2015.

45. Martinez-Rojas MA, Vega-Vega O, Bobadilla NA. Is the kidney a target of SARS-CoV-2, **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 318, n. 6. p. 1454-1462, 2020.

46. May RM, McLean AR, Pattison J, Weiss RA, Anderson RM, Fraser C, et al. Epidemiology, transmission dynamics and control of SARS: the 2002–2003 epidemic. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, v. 359, n. 1447, p. 1091-1105, 2004.

47. McIntosh K, Dees JH, Becker WB, Kapikian AZ, Chanock RM. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 57, n. 4, p. 933-940, 1967.

48. Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS. Acute respiratory distress syndrome. **The Lancet**, v. 398, n. 10300, p. 622-637, 2021.

49. **Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)**, 2022.
Disponível em:

https://www.who.int/health-topics/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers#tab=tab_1

50. Moreira, R. D. S. COVID-19: intensive care units, mechanical ventilators, and latent mortality profiles associated with case-fatality in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, n. 5, 2020.

51. Nebraska, **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, 2021. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/70/wr/mm705152e3.htm>

52. Oliveira, E. C. DE . et al. Prevalência de anticorpos contra SARS-CoV-2 em Mato Grosso, Brasil: pesquisa de base populacional. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 38, n. 5, 2022.

53. Organização Pan-Americana da Saúde. Nota Técnica: **Recomendações para informar e notificar Variantes de preocupação e Variantes de interesse de SARS-CoV-2**. Publicado em: 27 de julho de 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/documentos/recomendacoes-para-informar-e-notificar-variantes-preocupacao-e-variantes-interesse-sars>

54. Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, Harders F, Oude Munnink BB, Hakzevan der Honing RW, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. **Euro Surveill**, v. 25, n. 23, p. 2001-2005, 2020.

55. Padilha DA, Souza DSM, Kawagoe EK, Filho VB, Amorim AN, Barazzetti FH, Schörner MA, Fernandes SB, Coelho BK, Rovaris DB, Dos Anjos MPD, Moser JR, Melo FR, De Souza BB, Bessa DDC, Mendes FHPES, Boing AC, Boing AF, Lacerda JT, Moura GV, Bastiani DC, Moraes MH, De Oliveira LfV, Moreira RS, Stoco PH, Bazzo ML, Fongaro G, Wagner G. Genomic Surveillance of SARS-CoV-2 in Healthcare Workers: A Critical Sentinel Group for Monitoring the SARS-CoV-2 Variant Shift. **Viruses**, v. 15, n. 4, p. 984, 2023.

56. Pedersen RM, Tornby DS, Bang LL, Madsen LW, Skov MN, Jensen TG, et al. Rectally shed SARS-CoV-2 lacks infectivity: time to rethink faecal–oral transmission, **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 18, n. 9, p. 669, 2021.

57. Peeri NC, Shrestha N, Rahman MS, Zaki R, Tan Z, Bibi S, et al. The SARS, MERS and novel coronavirus (COVID-19) epidemics, the newest and biggest global health threats: what lessons have we learned, **International Journal of Epidemiology**, v. 49, n. 3, p. 717-726, 2020.

58. Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. **Nat Rev Microbiol**, v. 7, n. 6, p. 439-450, 2009.

59. Ranzani OT, Bastos LSL, Gelli JGM, Marchesi JF, Baião F, Hamacher S, et al. Characterisation of the first 250 000 hospital admissions for COVID-19 in Brazil: a retrospective analysis of nationwide data. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 9, n. 4, p. 407-418, 2021.

60. Riddell S, Goldie S, Hill A, Eagles D, Drew TW. The effect of temperature on

persistence of SARS-CoV-2 on common surfaces. **Viol J**, v. 17, p. 145, 2020.

61. Santos-López G, Cortés-Hernández P, Vallejo-Ruiz V, Reyes-Leyva J. SARS-CoV-2: basic concepts, origin and treatment advances. **Gac Med Mex**, v. 157, n. 1, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.24875/GMM.M21000524>

62. **SciELO - Brazil - COVID-19 in Brazil: advantages of a socialized unified health system and preparation to contain cases COVID-19 in Brazil: advantages of a socialized unified health system and preparation to contain cases**, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/bwLKC6ZfGhyFn3mp4RDhdQ>

63. Secretaria do Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul. Diretoria de Vigilância em Saúde. Coordenação de Vigilância Epidemiológica. Gerência Técnica de Influenza e Doenças Respiratórias. **Boletim Epidemiológico COVID-19**, abril, 2020.

64. SEGATA, J.; LÖWY, I.. Covid longa, a pandemia que não terminou. **Horizontes Antropológicos**, v. 30, n. 70, p. e700601, set. 2024.

65. SILVA, A. R. et al. Detecção de Anticorpos Neutralizantes contra as Variantes Delta, Gama e Omicron após Imunização por Coronavac e Booster com Pfizer. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, Supplement 2, 2022.

66. **Statement on Omicron sublineage BA.2**, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/22-02-2022-statement-on-omicron-sublineage-ba.2>

67. Su, Y. et al. **Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae**. *Cell*, v. 185, n. 5, p. 881-895, 2022.

68. Tan C, Huang Y, Shi F, et al. C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early. **J Med Virol**, 2020;92(7):856-862.

69. **Taxonomy**, 2022. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

70. Telenti A, Hodcroft EB, Robertson DL. **The Evolution and Biology of SARS-CoV-2 Variants**. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 12, n. 5, 2022.

71. The ARDS Definition Task Force. Acute Respiratory Distress Syndrome: The Berlin Definition. **JAMA**, v. 307, n. 23, p. 2526-2533, 2012.

72. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application | **Annals of Internal Medicine**, 2022. Disponível em: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-0504>

73. Toscano G, Palmerini F, Ravaglia S, Ruiz L, Invernizzi P, Cuzzoni MG, et al. Guillain-Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. **N Engl J Med**. v. 382, n. 26, p. 2574-2576, 2020.

74. Tosta, S. *et al.* Global SARS-CoV-2 genomic surveillance: What we

have learned (so far). **Infection, Genetics and Evolution**, n. 108, 2023.

75. Uraki, R. et al. Antiviral and bivalent vaccine efficacy against an omicron XBB.1.5 isolate. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 23, n.4, p. 402-403, 2023.

76. Vacinômetro. **Alerta Coronavírus**, 2021. Disponível em: <https://www.coronavirus.ms.gov.br/brasil-se-aproxima-aos-eua-em-numero-de-obitos>
Acesso em: 17 de jun de 2023.

77. Van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJM, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. **Nat Med**, v. 10, n. 4, p. 368-373, 2004.

78. Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. **N Engl J Med.**, 2020.

79. Wei C, Shan KJ, Wang W, Zhang S, Huan Q, Qian W. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant. **J Genet Genomics**, v. 48, n. 12, p. 1111-1121, 2021.

80. Wolf JM, Wolf LM, Bello GL, Maccari JG, Nasi LA. Molecular evolution of SARS-CoV-2 from December 2019 to August 2022. **J Med Virol**, v. 95, n. 1, 2023

81. World Health Organization. **Novel Coronavirus (2019-nCoV): situation report**, 2020. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330991>

82. World Health Organization. **Rapid point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis**, 2021.

83. World Health Organization. **Convened global study of origins of SARS-CoV-2: China Part**, 2022a. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/who-convened-global-study-of-origins-of-sars-cov-2-china-part>

84. World Health Organization. **IHR Emergency Committee on Novel Coronavirus (2019-nCoV)**, 2022b. Disponível em: [https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ih-er-emergency-committee-on-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ih-er-emergency-committee-on-novel-coronavirus-(2019-ncov))

85. World Health Organization. **Coronavirus (COVID-19) Dashboard**, 2022c. Disponível em: <https://covid19.who.int>

86. World Health Organization. **Tracking SARS-CoV-2 variants**. 2022d. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/what-we-do/tracking-SARS-CoV-2-variants>. Acesso em: 17 jun. 2022.

87. World Health Organization. **Statement on Omicron sublineage BA.2**, 2022e.

88. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **JAMA**, v. 323, n. 13, p. 1239-1242, 2020.

89. Xinhua, C. *et al.* Future trajectory of SARS-CoV-2: Constant spillover back and forth between humans and animals. **Virus Research**, v. 328, 2023.

90. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia, **N Engl J Med**, v. 369, n 4, p. 394, 2012.

91. Zeiser FA, Donida B, da Costa CA, Ramos G de O, Scherer JN, Barcellos NT, et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: A cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 6, p. 100-107, 2022.

92. Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. **Curr Biol**, v. 30, n. 7, p. 1346-1351, 2020.

ANEXO A – ANUÊNCIA DA PESQUISA

GOVERNO DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE



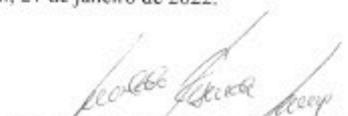
ANUÊNCIA DE PESQUISA

O Senhor Secretário Estadual de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul, Dr. Geraldo Resende Pereira, CPF: 128.969.181-91, autoriza a pesquisa “ViGeCoV2: Núcleo de vigilância genômica em tempo real do SARS-CoV-2 no Brasil”. O projeto é coordenado pelo Dr. Luiz Carlos Junior Alcantara, pesquisador titular em Saúde Pública, do Laboratório de Flavivirus do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (LABFLA – IOC/FIOCRUZ).

O objetivo da proposta é colaborar com o diagnóstico de SARS-CoV-2 e arboviroses circulantes, com fins de vigilância epidemiológica do Estado e do Ministério da Saúde. Logo solicita-se o acesso as amostras do Laboratório Central de Saúde Pública (Lacen/MS) para fins de pesquisa na vigilância dos surtos de importância nacional e internacional, visando acelerar a produção de conhecimento e contribuir com a vigilância, atendendo aos requisitos da Resolução CONEP nº 510/2016. Para isto, está autorizado o acesso as instalações e amostras do Lacen/MS para as atividades experimentais.

A SES/MS, por meio do Lacen/MS está de acordo com o projeto, e solicita ser informada quando da interrupção da pesquisa, e que os resultados sejam relatados no fluxo na Gerência de Pesquisa, Extensão e Inovação em Saúde da Escola de Saúde Pública Dr. Jorge David Nasser (ESP/MS). O Lacen/MS solicita ainda que os pesquisadores considerem as sugestões da Comunicação Interna nº13/2022 (anexo) para a realização da pesquisa no estado.

Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 21 de janeiro de 2022.


Geraldo Resende Pereira
Secretário Estadual de Saúde
Geraldo Resende Pereira
Secretário de Estado de Saúde/SES/MS

ANEXO B – PARECER DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: ViGeCoV2: Núcleo de vigilância genômica em tempo real do SARS-CoV-2 no Brasil

Pesquisador: Luiz Carlos Júnior Alcântara

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 32912820.6.1001.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.504.785

Apresentação do Projeto:

Trata-se de EMENDA ao projeto de pesquisa que previa, em sua versão original, investigar a dinâmica de dispersão em tempo real do SARS-CoV-2 nos estados de Minas Gerais (Sudeste), Mato Grosso (CentroOeste), Pernambuco e Bahia (Nordeste). Diante do contexto da epidemia COVID-19, os pesquisadores justificaram a necessidade da geração em tempo real de dados genômicos do SARS-CoV-2 para possibilitar o acompanhamento da dinâmica de dispersão viral e, portanto, subsidiar o desenvolvimento de ações

estratégicas no sistema de saúde pública, formando um núcleo de vigilância genômica em tempo real do SARS-CoV-2 no Brasil.

A EMENDA prevê a ampliação de objetivos para investigação de arboviroses. Conforme os pesquisadores apontam no protocolo com proposta de EMENDA, as arboviroses apresentam manifestações severas que podem ser facilmente confundidas com as da COVID-19, tais como distúrbios hemodinâmicos (hemorragias e permeabilidade capilar anormal), cardiológicas (miocardiopatias e falência hepática), desordens neurológicas (meningo-encefalites, mielites, mieloneuropatias, síndrome de Guillan-Barre (GBS) e encefalites). As arboviroses constituem um cenário alarmante de saúde pública no Brasil, notificando até a 22ª semana epidemiológica de 2020, mais de 800 mil casos. Embora ocorra emergência constante de surtos e intensa exposição da população, a distribuição de casos severos e óbitos notificados até o momento apresentou uma redução em comparação ao obtido em 2019,

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Si 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 4.504.785

para o mesmo período. Contudo esse declínio pode ser decorrente da emergência e manejo simultâneo da epidemia de SARS-CoV2, em vista da necessidade de mobilização dos sistemas de saúde. Devido aos fatores de co-circulação de distintos arbovírus e epidemia concomitante de SARS-CoV-2 no Brasil, amplo espectro de manifestações clínicas, potencialidade de evolução para casos severos e com agravos, torna-se vital o monitoramento ativo dos indivíduos

infectados para realizar a caracterização molecular e resposta imunológica do hospedeiro.

A HIPÓTESE do estudo, com inclusão da EMENDA, é que a geração em tempo real de dados genômicos e transcriptômicos de SARS-CoV-2 e arboviroses possibilita o acompanhamento da dinâmica de dispersão viral e compreensão da reposta imunológica decorrente da interação patógeno-hospedeiro e contribui com o desenvolvimento de ações estratégicas para a vigilância genômica e epidemiológica pelo sistema de saúde pública.

A METODOLOGIA envolve uso de 1000 amostras biológicas (swab nasofaríngeo, aspirado traqueal, lavado broncoalveolar, escarro ou de tecidos post mortem e sangue total) de COVID 19 dos estados de Minas Gerais, Mato Grosso, Pernambuco e Bahia e 210 amostras de conveniência para casos confirmados de arboviroses. Tais amostras são excedentes de outros procedimentos de rotina relativos à vigilância epidemiológica, que seriam habitualmente descartados, mas que ainda estão em condições de serem utilizados para a pesquisa. As amostras serão submetidas a técnicas de amplificação para obtenção de dados genômicos e transcriptômicos que serão depositados em bancos públicos de dados primários (NCBI GenBank e GISAID). Dados clínicos e epidemiológicos anonimizados (sem identificação nominal) referentes às novas sequências geradas serão inseridos, assim como as coordenadas geográficas que serão fundamentais para facilitar os estudos de dispersão.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO: As amostras clínicas (swab nasofaríngeo, aspirado traqueal, lavado broncoalveolar, escarro ou de tecidos post mortem e sangue total) deverão atender aos seguintes critérios de inclusão: 1) amostra positiva para SARS-CoV-2 com alta carga viral (ct < 35); 2) dados demográficos devidamente preenchidos (local de coleta, sexo, idade, local de residência, cidade, país); 3) dados clínicos epidemiológicos (incluindo as informações sobre o histórico de viagem); 4) data de coleta e início dos sintomas. Para arboviroses circulantes, as amostras clínicas (sangue total) deverão atender aos seguintes critérios de inclusão: 1) amostra positivas para arboviroses com resultado por PCR em tempo real; 2) dados Demográficos devidamente preenchidos (local de coleta, sexo, idade, local de residência, cidade,

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coop@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 4.504.785

país); 3) dados clínicos epidemiológicos; 4) data de coleta e início dos sintomas. Serão coletadas amostras apenas de pacientes com idade igual ou superior a 18 anos.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO: Os seguintes critérios de exclusão serão aplicados para as amostras clínicas (swab nasofaríngeo, aspirado traqueal, lavado broncoalveolar, escarro ou de tecidos post mortem e sangue) disponíveis: 1) casos suspeitos de COVID-19 com baixa carga viral ($ct > 35$); 2) dados demográficos ausentes (local de coleta, sexo, idade, local de residência, cidade, país); 3) ausência de dados clínicos epidemiológicos (incluindo as informações sobre o histórico de viagem); 4) ausência de informações sobre data de coleta e início dos sintomas. Para arboviroses circulantes, as amostras clínicas (sangue total) serão aplicados os seguintes critérios de exclusão: 1) amostra sem resultado positivos confirmado para arboviroses por PCR em tempo real; 2) dados demográficos ausentes (local de coleta, sexo, idade, local de residência, cidade, país); 3) ausência de dados clínicos epidemiológicos; 4) ausência de informação sobre data de coleta e início dos sintomas. Não serão coletadas amostras de pacientes com idade inferior a 18 anos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Investigar a dinâmica de dispersão em tempo real e perfil transcriptômico para Arboviroses e SARS-CoV-2 nos estados de Minas Gerais (SUDESTE), Mato Grosso (CENTRO-OESTE), Pernambuco e Bahia (NORDESTE).

Objetivo Secundário: -Realizar o sequenciamento por nanoporos e análise em tempo real para rápida obtenção de genomas completos do SARS-CoV-2 e arboviruses circulantes (em menos de 24h); - Caracterizar os genomas completos gerados para identificar possíveis marcadores de gravidade; - Correlacionar as informações genômicas geradas e o perfil clínico dos pacientes;-Fortalecer e capacitar as plataformas de sequenciamento genômico em tempo real dos Laboratório de Saúde Pública nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso, Pernambuco e Bahia; -Identificar a existência de possíveis clados monofiléticos representativos das cadeias de transmissão local; -Caracterizar a história evolutiva e a disseminação geográfica e temporal do vírus isolado nas diferentes regiões ao longo do tempo auxiliando no controle dessa pandemia; -Avaliar e comparar a contribuição de fatores sócio-demográficos e ecológicos na dispersão do SARS-CoV-2; -Utilizar algoritmos de inteligência artificial (Machine Learning) para rastrear possíveis associações entre polimorfismos genéticos virais com diferentes desfechos clínicos; -Realizar Docking Molecular

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 4.504.785

com proteínas SARS-CoV-2 mutadas/projetadas com o receptor hospedeiro para avaliar as estruturas cristalinas disponíveis e entender melhor como isso influencia a invasão celular; -Investigar se a pandemia de SARS-CoV-2 nos diferentes estados do Brasil é resultado da transmissão comunitária e/ou de múltiplas introduções independentes, a partir de outros estados/países; -Implantar um banco de dados público de forma a facilitar o compartilhamento de dados para tomada de decisões em saúde pública; -Desenvolver uma estratégia de acompanhamento de saúde, baseada em transcriptômica para síndrome febril aguda relacionada às arboviroses e a SARS-CoV-2; -Detectar precocemente o impacto de possíveis vírus emergentes e re-emergentes circulantes em indivíduos com síndrome febril aguda relacionada às arboviroses e SARS-CoV-2 a partir de dados do perfil de expressão gênica global; -Caracterizar os genomas de arbovírus e SARS-CoV-2 para identificar possíveis marcadores moleculares associados à gravidade de tais patógenos; -Analisar os perfis transcriptômicos obtidos para arbovírus e SARS-CoV-2 para identificar possíveis genes candidatos associados à gravidade; -Realizar modelagem e dinâmica molecular de proteínas-alvo para avaliar o impacto das mutações nos respectivos genomas virais; -Analisar redes de interação proteína-proteína (PPIs), correlacionando-as aos dados de expressão gênica global para cada doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS: A exposição dos pacientes incluídos no projeto à algum tipo de risco é mínima. Os participantes da pesquisa estarão sujeitos a um risco mínimo de violação do anonimato, de forma não intencional, uma vez que se trata de pesquisa não intervencionista, para a qual serão utilizadas amostras clínicas de conveniência já coletadas para diagnósticos de vírus que causam síndrome respiratória aguda grave e doença febril aguda como parte da rotina dos LACENs participantes deste projeto. Tais amostras biológicas são excedentes de outros procedimentos de rotina relativos à vigilância epidemiológica, que seriam habitualmente descartados, mas que ainda estão em condições de serem utilizados para a pesquisa. Para minimizar os riscos e garantir a confidencialidade, as amostras dos pacientes serão identificadas por um número de registro deste projeto apenas para validar a individualidade da informação. Dessa forma, as amostras não serão identificadas com o nome dos pacientes. Além disso, todos os dados coletados (idade, sexo, estado, município, bairro, data de início dos sintomas e de coleta das amostras e sintomas) durante a execução desse projeto serão manejados e analisados de forma anônima, sem identificação nominal dos participantes da pesquisa, e serão apresentados de forma agregada, não permitindo a identificação

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 4.504.785

individual dos pacientes. Os pesquisadores, por sua vez estarão submetidos aos riscos relativos à manipulação de RNA viral extraído (inativado pelo processo de extração por kits comerciais) a partir de amostras biológicas com diagnóstico positivo para o vírus SARSCoV -2. Para minimizar os riscos e garantir a saúde dos pesquisadores, equipamentos de proteção individual (jaleco descartável, luvas cirúrgicas sem pó, toucas descartáveis e máscaras descartáveis) serão utilizados em todas as etapas da pesquisa, além do uso de cabines de segurança biológica, conforme item 3.1 das

orientações indicadas no comunicado do CONEP de 09/05/20 (SEI/MS - 0014765796). O fornecimento de uma amostra de sangue é um procedimento simples, contudo existem alguns pequenos riscos associados à obtenção de amostra de sangue, incluindo o potencial de dor durante a inserção da agulha, um pequeno risco de hematomas e desmaios e um raro risco de infecção. Em casos de solicitação de volume sanguíneo maior, os possíveis riscos desse procedimento incluem pressão arterial baixa, tonturas e desmaios e anemia. A coleta de esfregaço (swab) nasal de concha média apresenta poucos riscos, podendo gerar pequeno desconforto, mas não deve sentir nenhuma dor.

BENEFÍCIOS: Tecnológico: A presente proposta contribuirá para o desenvolvimento científico e tecnológico nacional a partir da aplicação e consolidação de ferramentas computacionais e equipamentos de última geração na pesquisa de vírus emergente e re-emergentes circulantes no Brasil. Inovação: A implementação de protocolos utilizando o sequenciador MinION Oxford Nanopore para a rápida caracterização do genoma completo e perfil transcriptômico de SARS-CoV-2 e arboviroses circulantes permitirá a identificação e monitoramento em tempo real da dispersão desses patógenos nas diferentes regiões do Brasil, auxiliando a avaliação de ações públicas, bem como permitirá elucidar a interação e impacto da interação patógeno - hospedeiro na patogênese e desfecho clínico das infecções. Além disso, a elaboração do banco de dados proposto reforça a solicitação da OMS quanto à necessidade de acesso aberto na ciência. Econômico: Os dados gerados poderão ser utilizados para a identificação de fatores de risco e prognóstico para gravidade e óbito as patologias virais, bem como para a melhoria das técnicas de diagnóstico e acompanhamento da COVID-19 e arboviroses, diminuindo os custos para o sistema único de saúde (SUS). Social: Os resultados desse projeto permitirão ao país entender o impacto de padrões de mutação no controle da replicação viral e na interação com a célula hospedeira, bem como irá avaliar a resposta imunológica dos pacientes infectados frente às arboviroses e SARS-CoV-2, direcionando subsídios para a escolha adequada de ações preventivas e intervenções terapêuticas, trazendo um

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Si 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coop@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 4.504.785

benefício direto ao paciente, ao serviço de atenção ao paciente e à comunidade. Além disso, pretendemos fornecer sistematicamente boletins com informações epidemiológicas para os órgãos públicos de saúde e para a população em geral, para informar tanto as autoridades em saúde quanto a sociedade sobre a pesquisa e os resultados que serão alcançados a respeito do cenário epidemiológico do SARSCoV-2 e arbovíroses circulantes nestes diferentes

estados. Dessa forma, o Ministério da Saúde poderá também utilizar as informações geradas na base de dados, produto desse estudo, para a adoção de campanhas contra as infecções causadas por estes vírus, favorecendo a qualidade de vida da população e acompanhamento clínico dos infectados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para a área de Genética com previsão de término em 01/08/2021.

As solicitações do COEP foram atendidas: Foi apresentados 5 Termos de Constituição de Biorrespositório referentes aos locais de coleta do material biológico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados Para a EMENDA:

- Carta de EMENDA, detalhando as alterações no protocolo (conforme discriminado na seção anterior)
- Formulário de Informações Básicas, com alterações resultantes da inclusão do estudo de arbovíroses e com justificativa da EMENDA
- Documento de anuências institucionais, contemplando aquelas incluídas no protocolo de EMENDA ((Secretaria de Saúde de Feira de Santana-BA, Universidade de Washington)
- Projeto completo com alterações destacadas
- Formulário para preenchimento da equipe técnica – arbovíroses
- Formulário para preenchimento dados do paciente – SARS-Cov-2
- Formulário para preenchimento da equipe técnica – arbovíroses
- Formulário para preenchimento dados do paciente – SARS-Cov-2
- TCLEs para maiores de 18 anos, específicos para pacientes com SARS-Cov-2, com arbovíroses, controle SARS-Cov-2e controle arbovíroses, em atendimento a pendência 4 abaixo.
- Termos de Constituição de Biorrespositório (há sugestão de modelo no site do CEP-UFMG).

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.504.785

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação do projeto de pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos favoráveis à aprovação do projeto "ViGeCoV2: Núcleo de vigilância genômica em tempo real do SARS-CoV-2 no Brasil" do pesquisador responsável Prof. Dr. Luiz Carlos Júnior Alcântara.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado conforme parecer.

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o COEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1661137_E1.pdf	14/01/2021 22:06:23		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_Biorrepositorio_FS.pdf	14/01/2021 21:56:16	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Outros	Carta_resposta_pendencias_jan2021.pdf	14/01/2021 21:41:39	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_Biorrepositorio_PE.pdf	14/01/2021 21:40:22	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_Biorrepositorio_MT.pdf	14/01/2021 21:39:43	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Declaração de Manuseio Material	Termo_Biorrepositorio_MG.pdf	14/01/2021 21:39:33	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.504.785

Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_Biorrepositorio_MG.pdf	14/01/2021 21:39:33	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_Biorrepositorio_HEM.pdf	14/01/2021 21:39:23	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_Biorrepositorio_BA.PDF	14/01/2021 21:39:15	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_detalhado_cep_EM_jan2021.pdf	14/01/2021 21:38:54	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_detalhado_cep_EM_dez2020.pdf	09/12/2020 14:20:46	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Outros	Carta_pendencias_EM_dez2020.pdf	09/12/2020 14:20:24	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_SARS_Pac_mod.pdf	08/12/2020 13:47:29	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_SARS_Cont_mod.pdf	08/12/2020 13:47:15	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ARBO_Cont_mod.pdf	08/12/2020 13:46:58	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ARBO_Pac_mod.pdf	08/12/2020 13:45:16	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Declaração de concordância	ANUENCIAS_Final_EM.pdf	09/11/2020 18:07:15	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Outros	CEP_EMENDA_vf.pdf	09/11/2020 17:41:38	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_ementa_vf_nov_2020.pdf	09/11/2020 17:41:07	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Outros	FORM_PESQUISA_ARBO_PAC.pdf	09/11/2020 17:40:31	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Outros	FORM_PESQUISA_ARBO_EQUIP.pdf	09/11/2020	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.504.785

Outros	FORM_PESQUISA_ARBO_EQUIP.pdf	17:40:03	Alcântara	Aceito
Outros	FORM_PESQUISA_SARS_PAC.pdf	09/11/2020 17:39:29	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Outros	FORM_PESQUISA_SARS_EQUIP.pdf	09/11/2020 17:38:53	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_SARS_ARBO_EM_nov_2020.pdf	09/11/2020 17:38:08	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Outros	Carta_Resposta_pendencias.pdf	02/07/2020 14:59:31	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Outros	TCUDs.pdf	02/07/2020 14:59:02	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_detalhado_v2_julho2020.pdf	02/07/2020 14:50:42	Luiz Carlos Júnior Alcântara	Aceito
Parecer Anterior	parecer_final.pdf	02/06/2020 13:19:24	JOILSON XAVIER DOS SANTOS JUNIOR	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	01/06/2020 14:08:47	JOILSON XAVIER DOS SANTOS JUNIOR	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	justificativa_TCLE.pdf	26/05/2020 10:31:36	JOILSON XAVIER DOS SANTOS JUNIOR	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	26/05/2020 10:30:47	JOILSON XAVIER DOS SANTOS JUNIOR	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 20 de Janeiro de 2021

Assinado por:
Corinne Davis Rodrigues
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br