

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Biológicas

Especialização em Controle e

Diagnóstico Microbiológico

João Paulo Machado Queiroz

# **EVOLUÇÃO DE SARS-COV-2 E SEU IMPACTO NA PANDEMIA**

Belo Horizonte - MG

2022

João Paulo Machado Queiroz

# **EVOLUÇÃO DE SARS-COV-2 E SEU IMPACTO NA PANDEMIA**

Monografia apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como pré-requisito para obtenção de grau de Especialista em Microbiologia.

Orientador (a): Prof. Dr. Rodrigo Araújo Lima Rodrigues

Belo Horizonte – MG

2022

043

Queiroz, João Paulo Machado.

Evolução de SARS-CoV-2 e seu impacto na pandemia [manuscrito] / João Paulo Machado Queiroz. – 2022.

87 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador (a): Prof. Dr. Rodrigo Araújo Lima Rodrigues.

Monografia apresentada ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como pré-requisito para obtenção de grau de Especialista em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Betacoronavirus. 3. Covid-19. 4. Genômica. 5. Monitoramento Epidemiológico. I. Rodrigues, Rodrigo Araújo Lima. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS  
GERAIS INSTITUTO DE CIÊNCIAS  
BIOLOGICAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MICROBIOLOGIA

### ATA DE DEFESA DE MONOGRAFIA

Às 14:00 horas do dia 18 de fevereiro de 2022, reuniu-se, de forma remota a Banca Debatedora constituído pela Dra Jaqueline Silva de Oliveira (Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais.) e o Prof. Rodrigo Araújo Lima Rodrigues (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG) - Orientador, para avaliar a Monografia intitulada "Evolução de SARS-CoV-2 e seu impacto na pandemia", do aluno João Paulo Machado Queiroz. Após a apresentação oral pública seguida de uma arguição, o aluno foi APROVADO, considerando as sugestões feitas pela Banca debatedora. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que será assinada pelos membros participantes da Banca Debatedora. Belo Horizonte, 18 de fevereiro de 2022.

Belo Horizonte, 18 de fevereiro de 2022.

Membros da banca:

Dra. Jaqueline Silva de Oliveira  
Prof. Rodrigo Araújo Lima Rodrigues –  
Orientador

Profa. Nalu Teixeira de Aguiar Peres  
Coordenadora do Curso de Especialização em Diagnóstico  
Microbiológico



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Araújo Lima Rodrigues, Professor do Magistério Superior**, em 17/04/2023, às 09:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nalu Teixeira de Aguiar Peres, Professora do Magistério Superior**, em 17/04/2023, às 09:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jaqueline Silva de Oliveira, Usuária Externa**, em 17/04/2023, às 09:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2231051** eo código CRC **72143B1D**.

---

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por me dar força e sabedoria para concluir mais um curso de especialização. Aos meus pais, Ana Clara e José Roberson, que acreditaram em mim e apoiaram as minhas escolhas.

Também a meu irmão e amigo, José Augusto, que sempre esteve ao meu lado nesta caminhada. Aos professores da Especialização, que colaboraram com minha formação; em especial meu orientador, Professor Doutor Rodrigo Araújo Lima Rodrigues, por me auxiliar, criticar, sugerir e guiar durante a elaboração desta Monografia. Aos meus colegas de classe, pela troca de experiências durante as aulas remotas e práticas que foram de suma importância, particularmente à Fabiana Marques e Isabela Brito, integrantes do meu trio para trabalhos e relatórios.

## RESUMO

O coronavírus é um tipo de vírus da família *Coronaviridae* sendo a mais diversa dentro da ordem *Nidovirales*. O novo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2) é um coronavírus altamente contagioso e patogênico que surgiu no final de 2019 e causou uma pandemia de doença respiratória aguda conhecida como doença "coronavírus 2019" (COVID-19), uma ameaça à saúde humana e segurança pública, em 31 de Dezembro de 2021, foram 198 milhões de casos positivos e 3,5 milhões de mortos no mundo, somente no Brasil, tivemos 14.611.740 casos positivos e 424.107 mortes O SARS-CoV-2 é um vírus de ácido ribonucleico (RNA), cujo o material genético é representado por uma única molécula de RNA senso positivo (RNA+). Aproximadamente 29 proteínas virais diferentes são identificadas, entre elas as mais importantes são a glicoproteína de pico, reconhecida como proteína S, e a proteína N, do nucleocapsídeo viral. A glicoproteína de pico permite a entrada do vírus na célula hospedeira pela ligação no receptor celular e à fusão na membrana. Milhares de variantes do SARS-CoV-2 surgem todos os dias em todo o mundo, destacando os desafios de reforçar a detecção oportuna, expansão e fortalecimento da vigilância epidemiológica, vigilância laboratorial e comunicação. A medida que as pesquisas em saúde evoluem, formas para prevenir e controlar doenças podem ser aperfeiçoadas, como para a pandemia da COVID-19. Ferramentas como NGS e PCR podem fortalecer as redes globais de vigilância genômica, como uma das medidas de controle global da pandemia de COVID-19. Nesta revisão, descrevemos a virologia básica do SARS-CoV-2, incluindo recursos genômicos e uso de receptores, destacando suas principais diferenças em relação aos coronavírus conhecidos anteriormente e destacamos o papel da vigilância genômica no combate à pandemia principalmente na identificação de novas linhagens e mutações genéticas do vírus. Ainda abordamos as variantes mais preocupantes descritas como: Alpha, Beta, Gamma, Delta e Ômicron e as variantes de interesse denominadas: Mu e Lambda e seu impacto na pandemia.

Palavras-chave: Covid-19; Variantes; Pandemia; Coronavírus; SARS-CoV-2; Evolução; Vigilância Genômica.

## ABSTRACT

The coronavirus is a type of virus in the Coronaviridae family, being the most diverse within the Nidovirales order. The new severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) is a highly contagious and pathogenic coronavirus that emerged in late 2019 and caused a pandemic of acute respiratory illness known as "coronavirus 2019" (COVID 19), a threat to human health and public safety. On December 31<sup>st</sup>, 2021, there were 198 million positive cases and 3.5 million deaths in the world, in Brazil alone, we had 14,611,740 positive cases and 424,107 deaths. SARS-CoV-2 is a ribonucleic acid (RNA) virus, whose genetic material is represented by a single molecule of positive sense RNA (RNA+). Approximately 29 different viral proteins are identified, among them the most important are the spike glycoprotein, recognized as the S protein, and the N protein, of the viral nucleocapsid.

The spike glycoprotein allows the virus to enter the host cell by binding to the cell receptor and fusing into the membrane. Thousands of SARS-CoV-2 variants emerge every day around the world, highlighting the challenges of bolstering timely detection, expanding and strengthening epidemiological surveillance, laboratory surveillance and communication.

Quickly, as health research evolves, measures to prevent and control the pandemic can be supported by COVID-19. Tool like NGS and PCR can strengthen global genome surveillance networks as one of the measures to fund the global control of the COVID-19 pandemic. In this review, we describe the basic virology of SARS-CoV-2, including genomic features and receptor use, highlighting its main differences from previously known coronaviruses and ribonucleic acid viruses. We also highlighted the role of genomic surveillance in combating the pandemic primarily in identifying of new strains and genetic mutations of the virus. We still address the most worrisome variants described as: Alpha, Beta, Gamma, Delta and Ômicron and the variants of interest called: Mu and Lambda and their impact on the course of the pandemic.

Keywords: Covid-19; Variants; Pandemic; Coronavirus; SARS-CoV-2; Evolution; Genomic Surveillance.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura da partícula viral do SARS-CoV-2 e o diagrama da proteína S .....	23
Figura 2 Representação esquemática da organização do genoma do SARS-CoV- 2 e os mRNA subgenômicos e a estrutura viral.....	24
Figura 3 Ciclo de multiplicação viral .....	26
Figura 4 Linha do tempo dos acontecimentos marcantes no início da pandemia da COVID-19 .....	28
Figura 5 Potencial papel da ferritina durante a inflamação após a infecção por COVID-19 ...	30
Figura 6 Número de casos de COVID-19 no mundo até 31 de dezembro de 2021 .....	33
Figura 7 Casos confirmados de COVID-19 no Brasil até 25 de dezembro de 2021 .....	37
Figura 8 Árvore filogenética do coronavírus.....	44
Figura 9 Mapa filogenético: Rede filogenética dos 160 genomas de SARS-CoV-2.....	45
Figura 10 Incidência de casos relatados de SARS-CoV-2 e internações por COVID-19 pela variante beta.....	53
Figura 11 Casos positivos semanais de COVID-19 no estado do Amazonas .....	55
Figura 12 Casos confirmados de COVID-19 na Índia pela variante delta .....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação dos casos de COVID-19 .....	38
Tabela 2: Variantes de preocupação .....	49
Tabela 3: Variantes de interesse .....	60

## LISTA DE ABREVIACÕES

ACE – Enzima conversora de angiotensina

AIDS – Síndrome da imunodeficiência adquirida

CDC – Center for Disease Control and Prevention

cDNA – Ácido Desoxirribonucleico complementar

CLIA - Automatic Chemiluminescence Immunoassay

CoGUK - Genomics Consortium United Kingdom

COVID – Doença do Coronavírus

COV - Coronavirus

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ECDC – Centro europeu para prevenção e controle de doenças

ESPIN - Emergência de saúde pública de importância nacional

FDA - Food and Drug Administration

GISAID – Global initiative on sharing all influenza data

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

ICTV - Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus

IFN- $\gamma$  – Interferon gama

IgG – Antígenos G

IL 1,6,10 e 18 - Interleucinas

IgM – Antígenos M

INF – Intervenções não farmacológicas

IPC – Prevenção e controle de infecção

LFIA – Fast Lateral Flow Immunoassay,

MERS – Síndrome respiratória do oriente médio

NAAT – Teste de amplificação de ácidos nucleicos

NGS – Sequenciamento de próxima geração

NTD – Domínio N-terminal

OMS – Organização mundial da saúde

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde

ORF – Quadro de leitura aberto

PANGOLIN - Phylogenetic assignment of named global outbreak lineages

PCR – Proteína C reativa

PCT – Procalcitonina

PHSM – Medidas de saúde pública e sociais

PIF – Peritonite infecciosa felina

RBD – Domínio de ligação do receptor

RBM - Motivo de ligação ao receptor

RdRp – RNA polimerase dependente de RNA viral

RNA – Ácido ribonucleico

RNAm – RNA mensageiro

RSI- Regulamento Sanitário Internacional

NSPS – Proteínas não estruturais

RT-PCR – Reação da cadeia da polimerase precedida de transcrição reversa

RT-qPCR - Reação da cadeia da polimerase precedida de transcrição reversa em tempo real quantitativo

SARS-CoV-2 – Síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2

SARS - Síndrome respiratória aguda grave

SDRA – Síndrome do desconforto respiratório agudo

SE – Semanas epidemiológicas

SIM-P – Síndrome Inflamatória Multissistêmica Pediátrica

SMS – Sequenciamento de molécula única

SRAG – Síndrome respiratória aguda grave

ssRNA – RNA de fita simples

TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alpha

VEGF – Fator de crescimento endotelial

VOC – Variantes de preocupação

VOI – Variantes de interesse

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>18</b>
<b>3 OBJETIVOS</b>	
<b>3.2 Objetivos Gerais .....</b>	<b>19</b>
3.1 Objetivo Específico .....	19
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>20</b>
<b>5 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>21</b>
<b>5.1 Família <i>Coronaviridae</i> .....</b>	<b>21</b>
<b>5.2 SARS-CoV-2.....</b>	<b>23</b>
<b>5.3 COVID-19 .....</b>	<b>28</b>
<b>5.4 Epidemiologia.....</b>	<b>33</b>
<b>5.4.1 Mundo.....</b>	<b>33</b>
<b>5.4.2 Brasil.....</b>	<b>35</b>
<b>5.4.3 Minas Gerais.....</b>	<b>39</b>
<b>5.5 Evolução .....</b>	<b>39</b>
<b>5.5.1 Mecanismos de evolução viral .....</b>	<b>39</b>
<b>5.5.2 Filogenia .....</b>	<b>42</b>
<b>5.6 Variantes.....</b>	<b>47</b>
<b>5.6.1 Variantes de preocupação .....</b>	<b>47</b>
<b>5.6.1.1 Variante Alpha.....</b>	<b>49</b>
<b>5.6.1.2 Variante Beta .....</b>	<b>51</b>
<b>5.6.1.3 Variante Gamma.....</b>	<b>54</b>
<b>5.6.1.4 Variante Delta.....</b>	<b>56</b>
<b>5.6.1.5 Variante Ômicron .....</b>	<b>58</b>
<b>5.6.2 Variantes de interesse .....</b>	<b>60</b>
<b>5.7 Vigilância Genômica .....</b>	<b>61</b>

5 .7.2 RT-qPCR .....	62
5.7.3 Sequenciamento Genético .....	64
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>69</b>
<b>7 PERSPECTIVAS.....</b>	<b>71</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com as últimas visões no campo da microbiologia, vírus são parasitas intracelulares obrigatórios que infectam fungos, protozoários, arqueias e bactérias, plantas e animais (Abe, Costa e Lucas, 2019). O termo vírus vem do latim, significa veneno, de acordo com Trabusli e Alterthum (2015). Antes da chegada do microscópio eletrônico, se acreditava que muitas doenças seriam causadas por veneno. Embora os vírus não sejam células, eles têm um genoma de ácido nucleico que codifica as funções necessárias para sua replicação e uma forma extracelular chamada vírion, que permite que o vírus se espalhe de uma célula hospedeira para outra. O vírus não pode se replicar, a menos que sua partícula se espalhe em uma célula hospedeira adequada, num processo denominado infecção. A partícula de um vírus é composta por uma estrutura proteica denominada capsídeo, que contém o genoma viral. A maioria dos vírus bacterianos apresenta apenas o capsídeo e o genoma, enquanto muitos vírus que acometem os animais contêm uma camada externa composta de proteínas e lipídios chamada de envelope. No caso do vírus envelopado, a estrutura interna composta de ácido nucleico e proteína do capsídeo é chamada de nucleocapsídeo (Madigan et. al., 2016). Os genomas virais podem ser compostos de DNA ou RNA, podem ser de fita simples, de dupla-fita e circulares ou lineares (Madigan et. al., 2016).

Ao longo da história, diversas epidemias atormentaram a humanidade e forçaram grandes mudanças nos hábitos sociais, algumas das quais continuam até hoje. No passado, havia pouca informação e um campo da ciência dava o primeiro passo para entender certas doenças, o que tornava as coisas mais complicadas (Gasque et. al., 2020). No entanto, pandemias como a doença do coronavírus de 2019 (COVID-19) não são fenômenos inteiramente novos.

Doenças infecciosas emergentes (e reemergentes) têm ameaçado os humanos desde a revolução neolítica, 12.000 anos atrás, quando caçadores-coletores humanos se estabeleceram em aldeias para domesticar animais e cultivar plantações. Apenas um século atrás, a pandemia de gripe espanhola matou 50 milhões ou mais de pessoas, um dos eventos mais mortais na história humana registrada. A pandemia de HIV / AIDS, reconhecida em 1981, já matou pelo menos 37 milhões de pessoas (Morens e Fauci, 2020). Assim como essas pandemias mudaram o mundo, agora estamos passando por algo semelhante com a Doença do Coronavírus (COVID-19) (Morens e Fauci, 2020).

A pandemia da COVID-19, até 31 de dezembro de 2021, já afetou mais de 200 milhões de pessoas, levando à morte mais de 4 milhões no mundo; somente no Brasil são mais de 22 milhões de casos e 619 mil mortos. (OPAS/OMS, 2021).

A COVID-19 é causada por um novo tipo de coronavírus, agora denominado Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus-2 (SARS-CoV-2). A COVID-19 é uma doença infecciosa respiratória aguda, que se espalha principalmente pelo trato respiratório. O primeiro caso da doença foi relatado no final de 2019, na cidade de Wuhan, China (Zhu et al., 2020). Os coronavírus humanos são grandes vírus de RNA e pertencem à família *Coronaviridae*, subfamília *Orthocoronavirinae*, a qual é dividida em quatro gêneros (alfa, beta, gama e delta) (ICTV, 2021). Estruturalmente, SAR-CoV-2 contém quatro proteínas estruturais, que incluem espícula (S), envelope (E), membrana (M) e proteínas do nucleocapsídeo (N). Essas proteínas compartilham alta similaridade com as correspondentes de SARS-CoV e MERS-CoV, ambos membros do gênero *Betacoronavirus* (Naqvi, et al., 2020). O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de sentido positivo, cujo genoma é de baixa estabilidade, portanto, é mais propenso ao acúmulo de mutações (OPAS/OMS, 2021). O surgimento de mutações é um evento natural e esperado dentro do processo evolutivo dos vírus. Desde a caracterização genômica inicial do SARS-CoV-2, este vírus se dividiu em diferentes grupos genéticos ou clados. Desde a identificação inicial do SARS-CoV-2 até o momento, foram compartilhadas mais de 2.719.321 sequências genômicas completas no mundo todo, por meio de bancos de dados de acesso público (GISAID). A capacidade de monitorar a evolução viral quase em tempo real tem impacto direto na resposta de saúde pública à pandemia da COVID-19 (OPAS/OMS, 2021). Todos os vírus, incluindo o SARS-CoV-2, mudam com o tempo e com muita frequência. A maioria das mudanças tem pouco ou nenhum impacto nas propriedades do vírus, no entanto, algumas alterações podem afetá-las, como a facilidade com que ele se espalha, a gravidade da doença associada e capacidade de evasão da resposta imune. Ao fim de 2020, com surgimento de variantes que representavam um risco maior para a saúde pública global, a OMS estabeleceu a nomenclatura de Variantes de Interesse (VOIs) e Variantes de Preocupação (*Variants of Concern*), a fim de priorizar o monitoramento e a pesquisa globais e, em última instância, informar com maior clareza a resposta em andamento à pandemia de COVID-19 (Konings, et al., 2021). As VOCs, por meio de uma avaliação comparativa, demonstraram estarem associadas a uma ou mais das seguintes alterações em um grau de significância para a saúde pública global como aumento da transmissibilidade ou aumento da virulência. Atualmente são classificadas cinco variantes inclusas neste grupo: Alpha, identificadas no Reino Unido; Beta, na África do Sul; Gamma, no Brasil; Delta, na Índia e mais recentemente a variante Ômicron,



detectada inicialmente na África do Sul (Dyer, 2021; Konings, F., Perkins, M.D., Kuhn, J.H. et al..2021).

## 2 JUSTIFICATIVA

A justificativa para este trabalho se encontra em estudar a importância da evolução do vírus SARS-CoV-2, principalmente as VOCs, em como isso tem impactado no combate a pandemia. O aparecimento de mutações é um evento natural e esperado dentro do processo evolutivo de qualquer vírus, especialmente os que possuem ácido ribonucleico (RNA) como seu material genético, como é o caso do SARS-CoV-2. Isto acontece em virtude de falhas que são geradas pelo sistema de reparo de erros de síntese da fita de RNA, durante a replicação viral. Dada a evolução genética do SARS-CoV-2, grupos de pesquisadores desenvolveram sistemas para a classificação das linhagens, entre eles o Pangolin (Phylogenetic assignment of named global outbreak lineages), no qual são agrupadas as diversas variantes. A maioria das mutações encontradas nas diferentes linhagens circulantes atualmente tem um impacto significativo na disseminação do vírus, algumas estão sob vigilância em todo o mundo, a fim de compreender o seu papel, quanto ao aumento da transmissibilidade e virulência, e por consequência, o impacto nos sistemas de saúde com a elevação das taxas de hospitalização

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Realizar uma revisão da literatura sobre a evolução do SARS-CoV-2 e o impacto das variantes de preocupação, no curso da pandemia.

#### 3.2 Objetivo Específico

- Aprofundar no estudo sobre a pandemia da COVID-19, fazendo uma revisão sobre a família *Coronaviridae*, especificando a epidemiologia no mundo, no Brasil e no estado de Minas Gerais;
- Descrever o genoma de SARS-CoV-2 e os mecanismos de evolução deste vírus, bem como as características principais que definem as variantes de preocupação;
- Analisar o impacto das variantes de preocupação de SARS-COV-2 na progressão da pandemia;
- Analisar a importância da vigilância genômica em meio a pandemia, através de utilização de técnicas de biologia molecular como PCR e sequenciamento genético.

#### 4 METODOLOGIA

Para produzir esta revisão foram realizados levantamentos de artigos científicos nacionais e internacionais, nas bases de PubMed, *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) e Scholar Google, Embrapa e World Health Organization (WHO), Ministério da Saúde e Secretaria de Saúde do Estado de Minas Gerais.

Foram usadas as palavras chave utilizadas para a busca de artigos foram: Covid-19; Variantes; Pandemia; Coronavírus; SARS-CoV-2; Evolução; Vigilância Genômica.

Esta revisão foi desenvolvida de forma crítica, sempre buscando informações atuais, bem como trabalhos antigos, porém de referências mundiais na produção científica sobre o tema abordado.

## 5 REFERENCIAL TEÓRICO

### 5.1 Família *Coronaviridae*

Os membros da família *Coronaviridae* são grandes vírus envelopados de RNA de fita simples. Eles são os maiores vírus de RNA conhecidos, com um tamanho de genoma de 25 a

32 kb e um diâmetro da partícula viral de 118-140 nm. A família é dividida em duas subfamílias, *Letovirinae* e *Orthocoronavirinae*. As partículas virais são aproximadamente esféricas e recobertas pela proteína de espícula (S), uma glicoproteína que se estende a partir do envelope do vírus. O sistema de classificação atual coloca a família na ordem *Nidovirales*.

Existem quatro gêneros na subfamília *Orthocoronavirinae* sendo comumente denominados de alfa, beta, gama e deltacoronavírus. Os coronavírus são patógenos entéricos e do trato respiratório, regularmente associados apenas a doença leve (ou infecção inaparente).

Entretanto, o coronavírus relacionado à síndrome respiratória aguda grave (SARS) e o coronavírus relacionados à síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) causam doenças respiratórias graves (Payne, 2017; Srinivasan et al., 2020; Coronaviridae Study Group., 2020).

Mais de 60 coronavírus (CoV) foram isolados de morcegos (BtCoV), a maioria dos quais pertencentes ao gênero *Betacoronavirus*. Os morcegos agem como grandes (e altamente móveis) reservatórios de CoV; muitas espécies de morcegos possuem BtCoV exclusivos, o que indica uma longa história de coevolução (Sidell et al. 1983; Latinne, et al., 2020). A distribuição geográfica de muitos coronavírus é conhecida por se estender em vários continentes e, provavelmente, em todo o mundo. As infecções sazonais ocorrem com certos vírus, nomeadamente o coronavírus humano e o vírus da gastroenterite transmissível. Os coronavírus infectam principalmente seus hospedeiros vertebrados naturais sendo na maioria dos casos pela via respiratória ou fecal / oral. Foram relatadas infecções intrauterinas verticais do vírus da bronquite infecciosa e algumas cepas do vírus da hepatite murina (Hann et al., 2005; Lai, 2003). A disseminação por roupas e equipamentos contaminados é uma fonte importante do vírus da bronquite infecciosa e do coronavírus bovino. O coronavírus está relacionado a doenças de importância econômica e clínica, principalmente respiratórias e gastrointestinais. O vírus da peritonite infecciosa felina (PIF) causa peritonite em gatos, enquanto o vírus da encefalomielite hemaglutinante e algumas cepas do vírus da hepatite murina estão relacionados à encefalomielite em seus hospedeiros (Sidell et al., 1983; Shereen et al., 2020).

Desde a primeira ocorrência relatada da síndrome respiratória aguda grave – SARS - no sul da China, as especulações sobre a origem do SARS-CoV têm amplamente focado nas

espécies animais daquela região (Lai, 2003). Uma vez que a sequência genética do SARS-CoV é distinta e distante de qualquer coronavírus conhecido em animais domésticos, este provavelmente se originou de um animal selvagem. A busca por coronavírus na natureza em animais eventualmente resultou na detecção de um coronavírus em gatos civetas em um mercado na província de Guangdong, na China. O civet coronavírus está intimamente relacionado ao vírus SARS, com mais de 99% de similaridade de sequência. Recentes relatórios indicam que o SARS-CoV é distinto do civet vírus por deleções e mutações limitadas. A extensão da infecção por coronavírus entre animais selvagens ainda não é clara. Os tratadores de animais parecem estar em risco de infecção visto que uma proporção maior deles possui anticorpos contra o SARS-CoV. No entanto, mais testes são necessários para confirmar esta hipótese (Lai, 2003; Sigla et al., 1999). Embora plausível, o vírus do gato civeta como a origem do SARS-CoV ainda não foi estabelecido. É possível que civetas tenham sido infectados com o vírus de outra espécie de animal. Em qualquer caso, as questões críticas são se há transmissão horizontal extensa entre animais, e se o salto do vírus de animais para humanos era um evento raro e acidental ou por presságios a ocorrências frequentes no futuro. As respostas para essas questões irão determinar se esses animais são reservatórios viáveis para futuros surtos de SARS. Assim, estudos epidemiológicos de infecções por coronavírus em animais selvagens são essenciais para o controle de futuros surtos de SARS (Singla et al., 1999; Lai, 2003).

As características genômicas dos coronavírus incluem uma grande, molécula de RNA com capeamento 5' e cauda poliadenilada e genes que codificam a proteína do envelope (E), do complexo replicase / transcriptase, espícula (S), – membrana (M), – nucleocapsídeo (N). As proteínas S, E M estão incorporadas no envelope viral, com M sendo mais abundante no envelope, enquanto N é a única proteína do nucleocapsídeo viral helicoidal. Como o genoma é coberto e poliadenilado, ele está pronto para tradução uma vez introduzido no citoplasma da célula (Borges, 2020). Dependendo das espécies virais, uma variedade de quadros de leitura aberta (ORFs) menores para genes acessórios são encontrados nas regiões intergênicas das proteínas estruturais. O genoma dos CoVs é um RNA de fita simples de sentido positivo (ssRNA) que é maior do que qualquer outro vírus de RNA conhecido até o momento. A proteína do nucleocapsídeo (N) forma o capsídeo que recobre genoma e este está envolto por um envelope lipídico que está associado a três proteínas estruturais M, S, E dezesseis proteínas não estruturais (Helmy et al., 2020; Morgello, 2020; Chan et al., 2020).

## 5.2 SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 pertence ao gênero *Betacoronavirus* e é o agente causador da COVID-19, a terceira doença grave relacionada aos coronavírus humanos registrado até o momento. O primeiro surto foi devido ao SARS-CoV, que foi originado de morcego e gato civeta ocorrido durante 2002-2003 e o segundo surto foi do MERS-CoV, que começou na Arábia Saudita com aproximadamente 2.500 casos, 800 mortes e ainda não erradicado. Estruturalmente, o SARS-CoV-2 tem forma redonda ou elíptica e frequentemente pleomórfica, com um diâmetro de 60-140 nm aproximadamente e é sensível aos raios ultravioleta e ao calor. A estrutura completa consiste principalmente em quatro proteínas estruturais: espícula (S), nucleocapsídeo (N), membrana (M) e envelope (E) (Figura 1) (Zeidler and Karpinski, 2020).

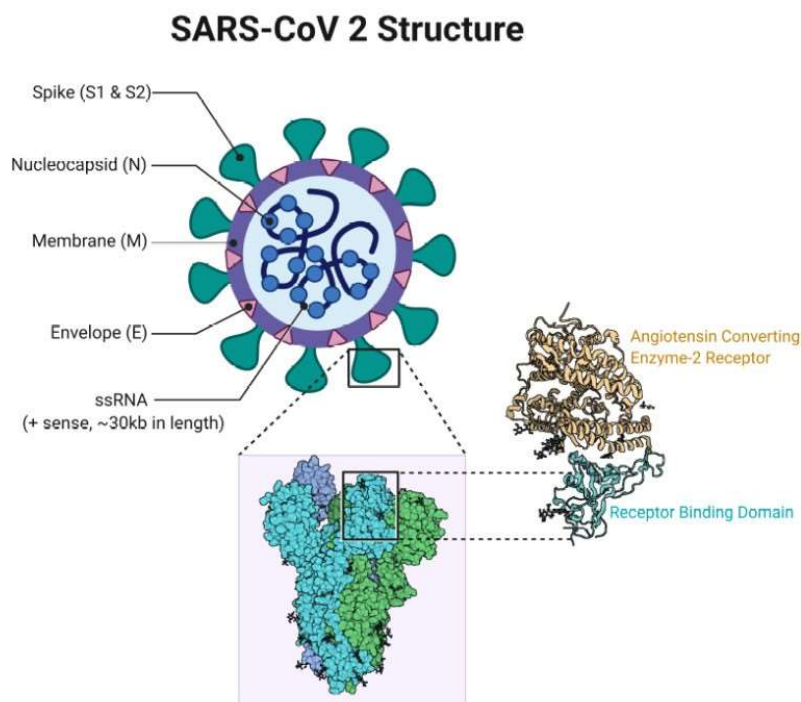


Figura 1: Estrutura da partícula viral de SARS-CoV-2. O RNA do vírus está localizado no interior da partícula viral e encontra-se associado a proteínas denominadas nucleocapsídeos (N). Na superfície do envelope estão as proteínas de membrana (M), as glicoproteínas spike (S) e a proteína de envelope (E). Abaixo o diagrama da proteína S. (Fonte: Cascella et al., 2021)

A análise genética e estrutural entre as sequências de diferentes coronavírus existentes mostram que SARS-CoV-2 é um novo tipo de coronavírus derivado da seleção natural. Análises de bioinformática mostram que o SARS-CoV-2 possui características típicas da família dos coronavírus. No início da epidemia de pneumonia de Wuhan, os cientistas

obtiveram sequências completas do genoma de cinco pacientes infectados com SARS-CoV-2. Essas sequências do genoma têm 79,5% de identidade de sequência com o SARS-CoV (Shi et al., 2020). Comparativamente a outros coronavírus, o SARS-CoV-2 possui maior proximidade genética a dois coronavírus derivados de morcegos, bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21 (cerca de 88% de correspondência genética), e mais distante de SARS-CoV (cerca de 79% de identidade) e MERS-CoV (cerca de 50% de identidade) (Shi et al., 2020; Duarte,2020). Os cientistas compararam a sequência completa do genoma do SARS-CoV-2 e outros genomas de  $\beta$ -coronavírus disponíveis. Os resultados mostraram que o SARS-CoV-2 tem a relação mais próxima com a cepa de coronavírus semelhante ao BatCov RaTG13, com uma similaridade de 96%. Esses estudos indicam que o SARS-CoV-2 pode ter se originado em morcegos, e o SARS-CoV-2 pode ter evoluído naturalmente do coronavírus de morcego RaTG13 (Wang et al., 2020).

O primeiro genoma completo do SARS-CoV-2 (Figura 2) foi relatado como sendo de 29,9 kb, que consiste em seis principais ORFs que são comuns aos CoVs e uma série de outros genes acessórios.

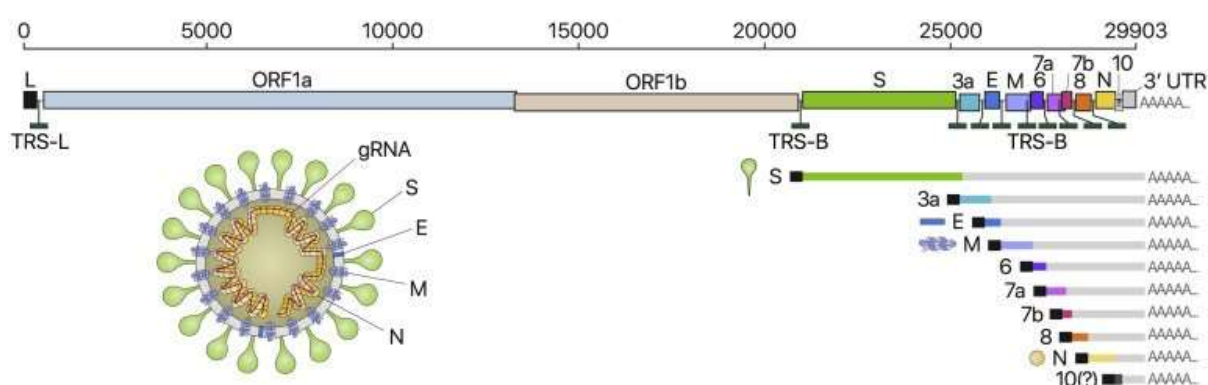


Figura 2: Representação esquemática da organização do genoma do SARS-CoV-2 e os mRNA subgenômicos e a estrutura viral. O terminal 5' do genoma de CoV contém dois quadros de leitura aberta (ORFs) sobrepostos: ORF 1a e ORF 1b, abrangendo dois terços do comprimento do genoma. ORF 1a e ORF 1b podem ser traduzidos em duas poliproteínas (pp), pp1a e pp1ab, que são posteriormente clivadas em 16 proteínas não estruturais (Nsps). O terminal 3' do genoma de CoV codifica quatro proteínas estruturais principais na ordem de proteínas spike (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N). As proteínas acessórias específicas do gênero também são codificadas no terminal 3' do genoma do CoV.

(Fonte: Kim et al., 2020)

Quatro ORFs do genoma de SARS-CoV-2 codificam quatro proteínas estruturais essenciais: (1) glicoproteína S é dividida em duas subunidades S1 e S2. A região S1 contém o



domínio de ligação do receptor, do inglês, Receptor Binding Domain (RBD), que medeia a ligação de vírus a receptores nas células hospedeiras e é fundamental para determinar o tropismo celular e a transmissibilidade do vírus. Finalmente, a região S2 consiste em um peptídeo de fusão, responsável pela adsorção da partícula viral com a membrana celular; proteína E é a menor de todas as proteínas e é presente no vírion em menor quantidade que as outras proteínas estruturais, apesar de ser expressa em grande quantidade durante a replicação na célula hospedeira, está associada ao desencadeamento do processo de montagem da partícula viral e brotamento; proteína M é presente em maior quantidade do envelope desempenha um papel na montagem de partículas virais e determina o local de brotamento do vírus e a forma do envelope viral; sua interação com a proteína N estabiliza o nucleocapsídeo. A glicoproteína de espícula de CoVs forma homotrímeros projetando-se da superfície viral e mediando a entrada do genoma do vírus nas células hospedeiras. Portanto, constitui o alvo dos anticorpos neutralizantes após a infecção e, então, o foco de diversos projetos de desenvolvimento de vacinas (Lu et al., 2020; Lauxmann et al., 2020; Srinivasan et al., 2020). Ao contrário de outros vírus de RNA, CoVs incluindo o SARS-CoV-2 têm o maior genoma de RNA da virosfera o qual é traduzido em proteínas estruturais e não estruturais (nsps). Essas proteínas não estruturais cooperam com a replicação do genoma de SARS-CoV-2. Poliproteínas complexas de SARS-CoV-2 e outros coronavírus são devidas à construção de diversas sequências de RNA com atividades enzimáticas variadas (Ogando et al., 2020).

O SARS-CoV-2, por ser um vírus, necessita obrigatoriamente de uma célula para que possa replicar seu material genético, pois não possui maquinaria enzimática suficiente para que isso aconteça, e assim são denominados parasitas intracelulares obrigatórios. Fora da célula o vírus dispõe de uma meia-vida variável em algumas superfícies. Estudos recentes têm demonstrado que o SARS-CoV-2 possui uma viabilidade em aerossóis de cerca de 3 horas, no cobre de 4 horas, de 24 horas em papelão, de 72 horas em plásticos e de 48 horas em aço inoxidável. Essas informações são de suma importância para as ações de mitigação da pandemia, enfatizando a necessidade da higienização das mãos e objetos (Palú, 2021).

O SARS-CoV-2 usa como receptor, a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), (figura 3) a mesma proteína usada pelo SARS-CoV para infectar humanos.

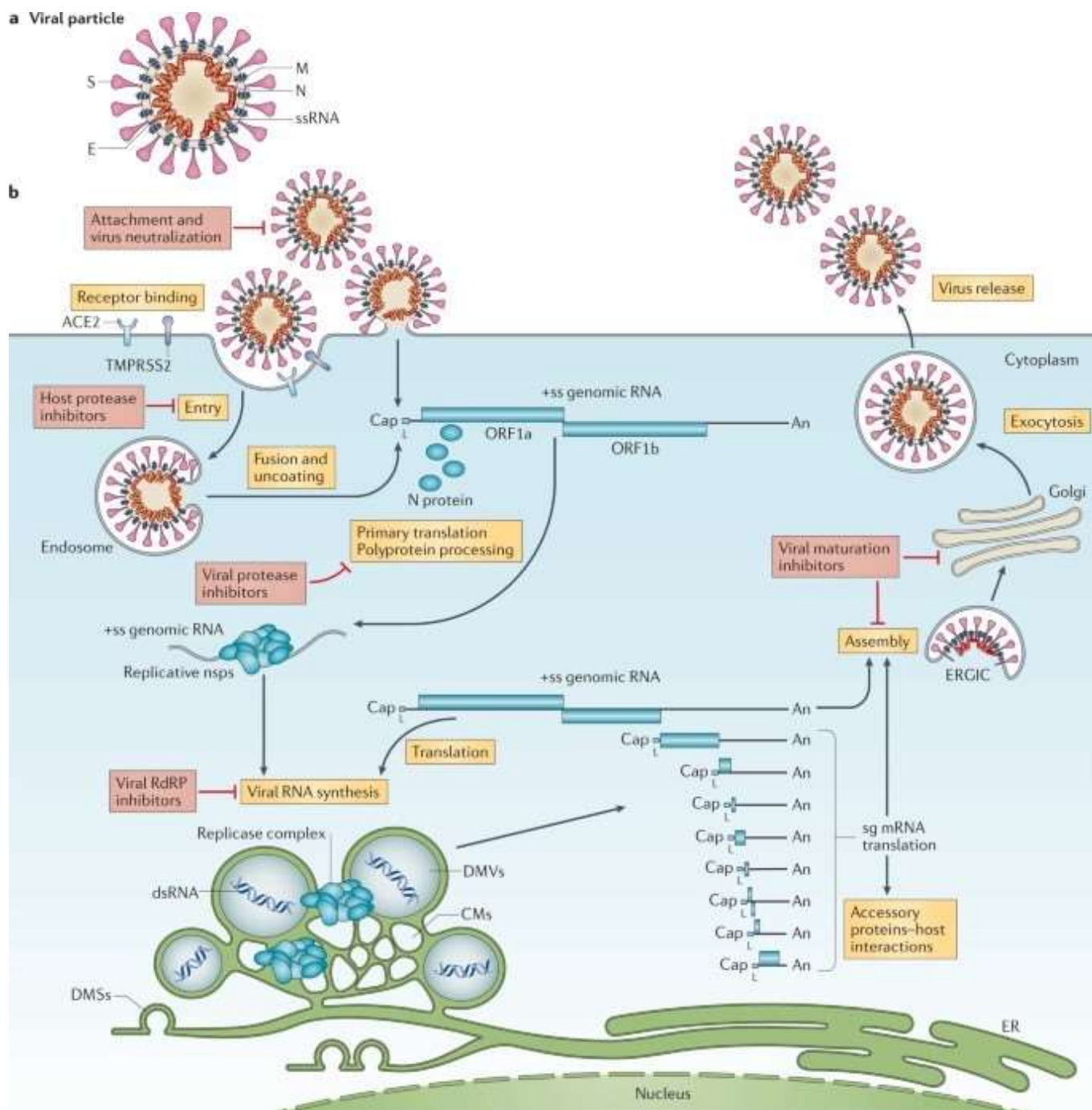


Figura 3: Ciclo de multiplicação do SARS-CoV-2 – a) A partícula do SARS-CoV-2 consiste em quatro proteínas estruturais, Spike (S), envelope (E), membrana (M), nucleocapsídeo (N) e, para alguns betacoronavírus, hemaglutinina-esterase (não mostrada) e o genoma é de RNA fita simples de sentido positivo (+ssRNA). b) O SARS-CoV-2 se liga ao receptor ACE2 na célula-alvo, que funde a membrana plasmática com o envelope viral onde em envolto por um endossomo e retira o RNA genômico. Alternativamente, os vírus podem entrar nas células por outras formas como TMPRSS2 e pela furina. As poliproteínas pp1a e pp1ab são posteriormente traduzidas e clivadas, formando um complexo replicase-transcriptase e facilitando a síntese de RNAs genômicos

e subgenômicos virais. As proteínas estruturais M, E e S são traduzidas e entram no Ergic, onde, juntamente com o RNA genômico associado à proteína N, formam vírions maduros, que serão excitados.

A ACE2 é uma metaloprotease expressa nas células do pulmão, intestino, fígado, coração, endotélio vascular, testículo e rim. Além disso, o SARS-CoV-2 tem um RBD que se liga com alta afinidade ao ACE2 de humanos e outras espécies com alta similaridade de receptor. Seis aminoácidos presentes no RBD da proteína de espícula são essenciais para a ligação aos receptores ACE2 do hospedeiro e para estabelecer a variedade do hospedeiro de vírus semelhantes ao SARS-CoV (Albini et al., 2020; Bourgonje et al., 2020; Ni et al., 2020; Lauxmann et al., 2020).

A propagação deste vírus ocorre pelo contato pessoa a pessoa, principalmente pelo contato direto, através de espirro, tosse, gotículas da saliva, aperto de mão. Mas além desses, também pode ocorrer através de objetos contaminados com fluídos, bem como indivíduos assintomáticos podem ser veículos de transmissão desta infecção. O SARS-CoV-2 apresenta uma taxa de transmissão superior em comparação ao SARS-CoV, em decorrência de uma recombinação genética na proteína S. E em relação à taxa de mortalidade esta aproximadamente de 3,6% é menor quando comparada ao SARS-CoV e MERS-CoV, aproximadamente 10 e 34% respectivamente. Portanto, o SARS-CoV-2 vem demonstrando uma taxa de infectividade maior quando comparada aos outros coronavírus responsáveis por desencadear quadros respiratórios agudos graves (Souza et al., 2021).

Inicialmente o genoma viral atua como mRNA e as regiões ORF1a e 1b são diretamente traduzidas pelos ribossomos gerando as poliproteínas pp1a e pp1b. Essas poliproteínas são então clivadas por proteinases virais levando a formação de 16 proteínas não estruturais, todas essenciais à replicação e transcrição, que se arranjam em vesículas de membrana dupla, dentro das quais a síntese de RNA genômico e subgenômico ocorre. A síntese RNA acontece de duas formas: a replicação do genoma total e a transcrição do RNA subgenômico. Na replicação o RNA de senso positivo é transcrito em um molde de RNA senso negativo, logo após vários RNA senso positivo são produzidos. A transcrição do RNA subgenômico acontece com um modelo de transcrição descontinuada onde a RNA polimerase RNA dependente (RpRd) pode prosseguir a polimerização ou parar a transcrição. Os moldes de RNA senso negativo que foram produzidos, serão usados para gerar RNAs senso positivo na tradução de proteínas virais estruturais e não estruturais (Alexandersen et al., 2020). A montagem do vírion acontece dentro das vesículas que se juntam a membrana plasmática liberando novos vírus (Uzunian, 2020; Barbosa, 2015). Segundo Bergmann et al., a replicação

dos CoVs acontece quase integralmente no citoplasma da célula infectada. (Bergmann et al., 2006; Palu, 2021).

### 5.3 COVID-19

Em dezembro de 2019 (Figura 4), a Organização Mundial da Saúde (OMS) foi notificada de um surto de pneumonia em Wuhan, província de Hubei, China, de causa desconhecida. Em 30 de janeiro de 2020, a OMS declarou a epidemia do Novo-Coronavírus 2019 (nCoV-2019) como uma emergência de saúde pública de preocupação internacional. Em 11 de fevereiro de 2020, a OMS nomeou oficialmente o atual surto de doença do coronavírus 2019 (COVID-19), e o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) nomeou o vírus de SARS-CoV-2 (Coronaviridae Study Group, 2020). De acordo com os dados recebidos pelas autoridades nacionais e a OMS, em poucos meses, o número de casos de COVID-19 confirmados ultrapassou 37 milhões e o número de mortos ultrapassou 1 milhão (OPAS/OMS, 2021; Wang et al., 2020). De acordo com Ciotti et al, a disseminação global do SARS-CoV-2 e as milhares de mortes causadas pela COVID-19 levaram a OMS a declarar uma pandemia em 12 de março de 2020 e até o presente momento, o mundo pagou um alto preço por esta pandemia em termos de vidas humanas perdidas, repercussões econômicas e aumento da pobreza (Ciotti et al., 2020)



Figura 4: Linha do tempo dos acontecimentos marcantes no início da pandemia da COVID-19. (Adaptado de Wang et al., 2020).

Os sintomas clínicos iniciais da COVID-19 são febre e tosse, geralmente seca, muito parecido com um quadro gripal. Relatórios recentes também descrevem infecções assintomáticas e sintomas gastrointestinais, especialmente em crianças e adolescentes entre 4-14 anos (Souza, Al et al., 2020). O período de incubação varia de 1 a 14 dias, com um intervalo médio de 5 - 6 dias. No início do surto, foram confirmados casos obtidos em 50 províncias de Whuan, China (181 casos na sua totalidade), calcularam que o período de incubação tinha uma média de 5,1 dias. Aproximadamente 97,5% dos pacientes com COVID-19 desenvolveram os sintomas no prazo de 11,5 dias após a infecção e aproximadamente 2,5% dos pacientes são calculados para desenvolver os sintomas no prazo de 2,2 dias (Lauer et al., 2020). Segundo o Ministério da Saúde, o período de incubação é estimado entre 1 a 14 dias, com mediana de 5 a 6 dias. (Brasil, Ministério da Saúde, 2021). Os sintomas específicos revelam que o período de incubação até o início da febre é de 5,7 dias. Um fator importante a se destacar é que o período de incubação pode variar de pessoa para pessoa (Lauer et al., 2020). Em pacientes sintomáticos, as manifestações clínicas da doença geralmente começam dentro de uma semana e incluem febre, tosse, congestão nasal, fadiga e outros sinais de infecção do trato respiratório superior. A pneumonia aparece entre a segunda e a terceira semana de uma infecção sintomática. Sinais relevantes de pneumonia viral incluem o nível baixo da saturação de oxigênio, desvios de gases sanguíneos, mudanças visíveis por meio de radiografias de tórax e outras técnicas de imagem, com anormalidades em vidro fosco, consolidação irregular, alveolar exsudatos e envolvimento interlobular, eventualmente indicativos de deterioração crescente. A linfopenia parece ser comum, e marcadores pró-inflamatórios como as citocinas estão aumentadas. (Velavan e Meyer, 2020; Tan, et al., 2020). Embora o SARS-CoV-2 seja menos letal do que o MERS-CoV, as pessoas com mais de 60 anos e aquelas com morbidades médicas subjacentes têm maior probabilidade de desenvolver uma doença grave caracterizada por pneumonia intersticial e síndrome do desconforto respiratório de agudo (SDRA) ou mesmo choque séptico. Da mesma forma, é comum observar altos níveis de marcadores de fase aguda e características da síndrome de ativação macrofágica, como hiperferritinemia, disfunção hepática e coagulação intravascular difusa (figura 5) (Lauxmann et al., 2020).

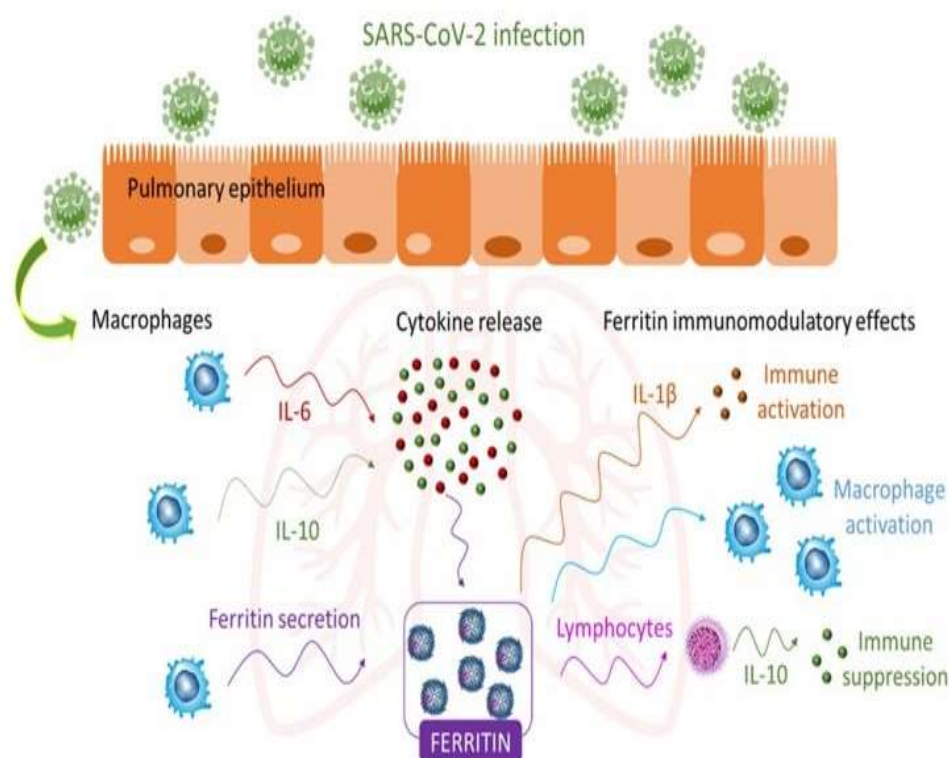


Figura: 5 Potencial papel da ferritina durante a inflamação após a infecção por COVID-19. A produção ativa de ferritina por macrófagos e citocinas pode levar à hiperferritinemia, que por sua vez, pode promover a produção de várias citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$ ) e anti-inflamatórias. Fonte: Gomez-Pastora et al., 2020.

Ao longo da progressão da pandemia da COVID-19, é claro que nem todos os pacientes infectados são tratados de forma igualitária. Os resultados da infecção pelo SARS-CoV-2 variam muito, e a maioria dos jovens sofre de uma doença leve. Além disso, o sexo é importante; pacientes do sexo masculino são mais comuns com doenças graves, provavelmente devido a diferenças nas respostas imunológicas induzidas (Rodriguez et al., 2020). Comorbidades como obesidade, hipertensão, doença pulmonar obstrutiva crônica e doença cardiovascular estão todas relacionadas a quadros da COVID-19 grave (Ejaz et al., 2020). É relatado que o número de cópias genômicas do SARS-CoV-2 no diagnóstico de pacientes com COVID-19 grave é maior do que o de pacientes com COVID-19 leve. Fumar é outro fator de risco: a fumaça do cigarro induz a expressão da enzima conversora da angiotensina-2 (ECA2), receptor para penetração viral além de afetar negativamente a função pulmonar geral. Embora o risco de doenças graves aumente com a idade, uma pequena proporção de pessoas jovens e de meia-idade sofre de COVID-19 grave, caracterizada por uma má saturação de oxigênio e expressivo quadro de inflamação nos pulmões. Esses casos requerem tratamento de emergência e terapia intensiva, e alguns estudos têm tentado

desvendar os mediadores das manifestações dessa doença altamente inflamatória (Rodriguez et al., 2020).

Além das diferenças na gravidade dos pacientes com COVID-19 grave, novos dados mostram que muitos outros resultados podem ocorrer após a infecção inicial com SARS-CoV-2. Após um longo período de terapia intensiva e ventilação mecânica, anestesia geral e doenças graves, é esperado que o paciente demore mais para sua recuperação. No entanto, agora também está claro que algumas pessoas com sintomas iniciais leves de COVID-19 podem apresentar sintomas variáveis e debilitantes dentro de alguns meses após a infecção inicial. Essa condição é popularmente conhecida como COVID longa. Não existe uma definição exata, mas normalmente os sintomas com duração superior a 2 meses são considerados como COVID longa (Reveendran, et al, 2021). A condição envolve uma série de sintomas como fadiga persistente, mialgia, desregulação autonômica que se manifesta como síndrome de taquicardia ortostática postural, termorregulação anormal, distúrbios intestinais e manifestações cutâneas. Esta síndrome pós-COVID tem semelhança com síndromes pós-infecciosas que se seguiram a surtos de Chikungunya e Ebola, por exemplo, e sintomas selecionados se sobrepõem à encefalomielite miálgica, uma doença que também é frequentemente desencadeada por infecção e ativação imunológica e se manifesta como um sistema nervoso autônomo desregulado e parâmetros imunes perturbados (Reveendran, et al, 2021; Valle et al., 2019).

A resposta imune do hospedeiro ao COVID-19 é similar ao da Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) e, portanto, as formas de tratamento podem ser benéficas no tratamento de pacientes com COVID-19. A SDRA é definida clinicamente como infiltrados neutrofílicos bilaterais observados em exames de imagem, hipóxia aguda e edema pulmonar. A SDRA é causada por uma resposta imune desregulada com um componente fibroproliferativo devido a níveis excessivos de citocinas, quimiocinas e espécies reativas de oxigênio (Gibson, et al., 2020; Batah e Fabro, 2021). Pacientes SDRA-positivos exibem níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-12 e IL-1 em comparação com pacientes com infecções não complicadas por COVID-19. Um estudo feito em camundongos positivos para SDRA confirmou esses achados, em que o fluido de lavagem broncoalveolar de cepas de camundongos positivos para SDRA tinham altos níveis de TNF- $\alpha$ , IL-6 e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) com níveis reduzidos de IL-10 em comparação com os controles (McGonagle et al., 2020). Desta maneira, os pacientes hospitalizados com infecções graves por COVID-19 têm perfis de citocinas elevados que

refletem o que define uma "tempestade de citocinas". A tempestade de citocinas é o resultado de uma resposta imune descontrolada devido à inflamação sistêmica e instabilidade hemodinâmica devido à abundância de citocinas pró-inflamatórias que incluem IL-1, IL-6, IL-18, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Como resultado, novas terapias são necessárias para impedir a resposta imune exacerbada, incluindo imunomodulação não convencional para controlar o aumento de citocinas pró-inflamatórias que resulta em um acúmulo de macrófagos, neutrófilos e células T da circulação para o pulmão, destruindo a interação célula-célula resultando em casos graves de SDRA. Esses achados sugerem que os pacientes que sofrem de SDRA e COVID-19 grave têm uma resposta anti-inflamatória defectiva que contribui para o dano inflamatório excessivo causado por uma série de citocinas pró-inflamatórias que causam estragos no tecido pulmonar (McGonagle et al., 2020). Danos extensos às células epiteliais e endoteliais do pulmão desencadeiam a destruição apoptótica levando a mudanças nas junções celulares no tecido alveolar, aumentando assim a permeabilidade vascular e, finalmente, o vazamento de fluido alveolar. Consequentemente, essas alterações celulares resultam no edema pulmonar classicamente visto em pacientes com SDRA, que é ainda mais complicado por um aumento na remodelação de células epiteliais desreguladas contribuindo para a fibrose pulmonar, uma causa comum de mortalidade em pacientes com SDRA (Gibson et al., 2020; Pollard, et al., 2020).

Outra condição pós-infecciosa rara e grave que pode ocorrer de 2 a 6 semanas após a infecção por SARS-CoV-2 é a síndrome inflamatória multissistêmica pediátrica associada a COVID-19, descrita pela primeira vez em crianças (SIM-P) e mais recentemente em jovens adultos (MIS-A) (Brodin, 2021). Essa síndrome hiperinflamatória compartilha características clínicas com a doença de Kawasaki, mas afeta também crianças mais velhas do que o paciente típico com doença e que mais frequentemente apresentam envolvimento intestinal e insuficiência miocárdica e choque (Brodin, 2021). Pesquisas serão necessárias para compreender a patogênese de todas essas condições pós-infecciosas, incluindo COVID longa (Brodin, 2021; Carfi et al., 2020). Compreender as implicações genéticas subjacentes à infecção grave por COVID-19 requer estudos bioquímicos e imunológicos mais complexos (Pollard et al., 2020).

Testes em massa para casos suspeitos para identificar pessoas infectadas com COVID-19 é essencial para prevenir a propagação da infecção. O diagnóstico *in vitro* com base na detecção de ácido nucleico viral usando a reação em cadeia da polimerase de transcriptase reversa em tempo real (RT-qPCR) (sensibilidade ~ 95%) ainda é o padrão ouro de referência



(Menezes et al., 2020). Outros ensaios de diagnóstico *in vitro*, como imunoenaios séricos (Fast Lateral Flow Immunoassay (LFIA), Automatic Chemiluminescence Immunoassay (CLIA) e (Manual ELISA) podem detectar a proteína viral SARS-CoV-2 e anticorpos no soro ou plasma, como IgM e IgG. Além disso, outros exames de sangue de rotina são usados para monitorar o estado da infecção por COVID-19, como função hepática e renal, marcadores do miocárdio, mioglobina, ferritina, taxa de hemossedimentação, proteína C reativa (PCR), procalcitonina (PCT), lactato, D-dímero, hemograma completo, perfil de coagulação, exame de rotina de urina, creatina quinase, lactato desidrogenase, eletrólitos e fatores inflamatórios interleucina (Lauxman, et al., 2020). O acompanhamento dos níveis de PCR e PCT ajudam a distinguir se houve infecção bacteriana no pulmão. O D-dímero infere o risco de coagulação do sangue e / ou embolia trombótica. Foi observado que na maioria dos pacientes com COVID-19 graves, o nível de dímero D está significativamente aumentado, mostrando distúrbios de coagulação frequentes e formações microtrombóticas (Vahist, 2020; Lauxman, et al., 2020; Chu et al., 2020).

## 5.4 Epidemiologia

### 5.4.1 Mundo

Desde o surto de COVID-19 em dezembro em Wuhan, China, a infecção se espalhou exponencialmente para outros lugares do mundo (Figura 6), e o número crescente de casos sugere claramente que a doença ainda está se espalhando continuamente.



Figura 6: Número de casos de COVID-19 até 31 de Dezembro de 2021. Fonte: OPAS/OMS

Inicialmente, vários casos (> 50 pessoas) de pneumonia aguda associada a COVID-19 foram relatados na China, que estavam ligados a um mercado de frutos do mar na província

de Wuhan. Desde então, o número de infectados atingiu mais de 200 milhões, o que ainda pode ser uma subestimativa, visto que existe uma grande possibilidade de exposições não rastreadas e indivíduos assintomáticos (Khan et al., 2020). A análise baseada em sequência de isolados de pacientes levou à identificação do agente causador como uma nova forma de coronavírus. Além disso, a tecnologia de sequenciamento e outras técnicas têm ajudado significativamente no diagnóstico correto da infecção viral. Inicialmente, os indivíduos que visitaram o mercado de frutos do mar ou consumiram a comida preparada com os animais infectados deveriam estar infectados com o SARS-CoV-2. Mais tarde, uma análise mais aprofundada e rastreamento de contato de pacientes positivos para COVID-19 revelaram que vários indivíduos sem histórico de viagens para o mercado de frutos do mar também foram testados como positivos para a doença COVID-19. Esses resultados apontaram para a possibilidade de transmissão do vírus de pessoa para pessoa, que foi subsequentemente relatada em mais de 200 países ao redor do mundo. (Khan et al., 2020).

Nos estágios iniciais da propagação global do COVID-19, os casos identificados fora da China eram em sua maioria viajantes infectados no país e que viajavam para áreas fora da China. Os países fora da China que inicialmente relataram casos COVID-19 associados a viagens foram Cingapura, Japão, República da Coreia, Malásia, Vietnã, Austrália, Estados Unidos da América, Alemanha, etc. A COVID-19 começou a se espalhar internamente na Coreia do Sul, Itália, Irã e Japão a partir de meados de fevereiro de 2020. Particularmente, na República da Coreia, a disseminação do COVID-19 foi bem administrada até meados de fevereiro. O número de casos confirmados na Coreia do Sul foi 31 em 18 de fevereiro de 2020 e a maioria desses casos eram viajantes da China ou seus contatos próximos. No entanto, infecções por COVID-19 entre um grupo religioso na área metropolitana de Daegu e um hospital próximo desencadearam uma propagação repentina para outras grandes cidades domésticas na Coreia do Sul em meados de fevereiro. Como resultado, uma semana depois, os casos confirmados subiram para 763 e 74,6% desses casos foram vinculados ao evento (em 24 de fevereiro de 2020). Em 1º de março, o número total de casos confirmados chegou a 3.526, dos quais 59,5% pertenciam a casos relacionados a grupos religiosos (Ahn et al., 2020).

A taxa de mortalidade estimada do SARS-CoV-2 (3,8%) é menor do que a do SARS-CoV (10%) ou MERS-CoV (37,1%). Relatórios cumulativos mostram que o SARS-CoV-2 pode ser transmitido por pessoas assintomáticas ou oligossintomáticos. Essas características podem explicar a propagação repentina do vírus (Ahn et al., 2020; Rothe et al., 2020). Alguns

termos como distanciamento social, quarentena e lockdown, são usados para se referir a tomada de medidas para controlar a pandemia de COVID-19. Esses termos não são novos e estão relacionados a medidas de saúde pública não relacionadas a drogas, historicamente, a fim de controlar epidemias, principalmente quando não há vacinas e medicamento antiviral, as chamadas intervenções não farmacológicas (Wilder-Smith e Freedman, 2020). Os três primeiros casos de COVID-19 na Europa foram registrados na França no dia 24 de janeiro. Também houve relatos em 15 de janeiro. Em fevereiro, a primeira morte naquele continente. Uma semana depois, outros oito países registraram casos. A propagação da epidemia na Itália apresentou uma tendência dramática. Espanha e França, onde se desenvolveu rapidamente para crises graves de saúde, com muitos casos de falecimentos e o consequente esgotamento de recursos do sistema de saúde. Isso acelerou a adoção de medidas de controle, o que não aconteceu ao mesmo tempo, com grandes diferenças entre os países (Aquino et al., 2020).

Após 1 milhão de casos confirmados e 100.000 mortes na Europa, a pandemia da COVID-19 começou a diminuir no continente em abril de 2020. Este declínio tão esperado é causado pelas políticas nacionais sem precedentes de isolamento social (que ficou conhecido popularmente como "ficar em casa") na maioria dos países, incluindo o fechamento de fronteiras, proibição de arrecadação de fundos públicos, fechamento de escolas e locais de trabalho e restrições temporárias à livre circulação de cidadãos (Vokó e Pitter, 2020). Devido ao rápido surgimento da epidemia de COVID-19, muitas medidas de controle da epidemia foram introduzidas ao mesmo tempo, com vários graus de conformidade em diferentes países. Portanto, é difícil avaliar a eficácia das intervenções individualmente. De um modo geral, a pesquisa na literatura científica, atualmente, envolve modelagem matemática da dinâmica de transmissão da doença, com base em dados observados e simulações de cenários hipotéticos, segundo os quais as intervenções serão capazes de reduzir a propagação do vírus (Aquino et al. 2020).

#### **5.4.2 Brasil**

No Brasil, a COVID-19 foi introduzida em fevereiro e foi declarado uma emergência de saúde pública de importância nacional (ESPIN), e uma série de medidas de saúde foram implementadas para conter a propagação da doença (Cardoso et al., 2020; Cavalcante et al., 2020).

Uma importante questão epidemiológica diz respeito à elevada infectividade do SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, cuja velocidade de propagação baseada no  $R_0$  pode variar de 1,6 a 4,1. A alta taxa de infecção do SARS-CoV-2 e a ausência de uma vacina

contra esse vírus fizeram com que o aumento do número de casos fosse exponencial. E em função da inexistência de medidas preventivas ou terapêuticas específicas para a COVID-19, e sua rápida taxa de transmissão e contaminação, a OMS recomendou aos governos a adoção de intervenções não farmacológicas (INF), as quais incluem medidas de alcance individual (lavagem das mãos, uso de máscaras e restrição social), ambiental (limpeza rotineira de ambientes e superfícies) e comunitário (restrição ou proibição ao funcionamento de escolas e universidades, locais de convívio comunitário, transporte público, além de outros espaços onde pode haver aglomeração de pessoas). Entre todas, destaca-se a restrição social. No Brasil, diversas medidas foram adotadas pelos estados e municípios, como o fechamento de escolas e comércios não essenciais. Trabalhadores foram orientados a desenvolver suas atividades em casa, alguns municípios e estados encerraram-se em seus limites e divisas. Autoridades públicas locais chegaram a decretar bloqueio total (lockdown), com punições para estabelecimentos e indivíduos que não se adequassem às normativas. A restrição social resulta ser a medida mais difundida pelas autoridades, e a mais efetiva para evitar a disseminação da doença e achatar a curva de transmissão do coronavírus. Geralmente, a repercussão clínica e comportamental dessa obrigação implica mudanças no estilo de vida e pode afetar a saúde mental dos cidadãos (Malta et al., 2020).

Uma pesquisa ecológica descritiva analisou o Brasil e suas macrorregiões, unidades federativas e outros nove países com maior número de casos, e concluiu que o Brasil é um dos países com maior número de casos confirmados e óbitos, com diferenças regionais. Desde janeiro de 2020, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) apoia as ações do Ministério da Saúde. Experiência em vigilância, atenção à saúde e comunicação de risco. No Brasil, até 25 de dezembro de 2021, 13 estados apresentavam um panorama de deterioração, formando uma linha vermelha, onde gestores e cientistas se concentravam no combate à pandemia. Dentre esses estados, a maior parte dos casos confirmados de COVID-19 (Figura 7) concentra-se na região Sudeste e Sul, principalmente nos estados de São Paulo, com 4.450.315 casos, no estado de Minas Gerais, que tem 2.218.695 casos, Paraná, 1.549.979, Rio Grande do Sul com 1.500.183. Santa Catarina com 1.239.177 e no Rio de Janeiro com 1.350.792 para um total de 12.982.458 casos confirmados. Em seguida, a maior contribuição veio do Nordeste, com destaque para o Estado da Bahia com 1.264.804; o Estado do Ceará 954.518; Estado de Pernambuco, 644.071; Estado da Paraíba, 463.560; Rio Grande do Norte 386.038 e Maranhão 370.188 com um total de 4.083.179 casos. Outras regiões contribuíram

com 2.396.135 pessoas no Centro-Oeste e 1.918.208 pessoas na região Norte (Cardoso et al., 2020).



Figura 7: Distribuição de casos confirmados de COVID-19 no Brasil até 25 de Dezembro de 2021. Fonte: Adaptado de Cardoso et al., 2021.

A rápida descoberta de imunizantes seguros e eficazes deparou-se não apenas com a dificuldade de se colocar disponível à população em virtude da capacidade de produção insuficiente para atender a demanda mundial por vacinas, mas também com a hesitação e recusa decorrentes da desconfiança estimulada pela desinformação e fake news (Brito et al., 2021). Embora o tempo de desenvolvimento da vacina anti-Covid-19 seja muito curto, deve-se ressaltar que, em 2002, a China relatou a primeira infecção por um coronavírus relacionado a SARS. A tecnologia usada para combater a SARS, já estava em produção desde 2003, quando surgiu o primeiro surto global de envolvendo um coronavírus. Em 2012 outro coronavírus apareceu, com a MERS, desta mesma forma que em 2003, dezenas de companhias fizeram vários testes clínicos, porém a pandemia acabou antes de uma imunização coletiva ser usada. Com o advento do SARS-CoV-2, a tecnologia para combater o coronavírus já existia, o que os pesquisadores fizeram foi aprimorar a tecnologia existente, observando que este novo vírus possui uma proteína Spike (proteína S) diferente dos outros coronavírus. Os resultados de pesquisas mais avançadas mostram que as vacinas existentes têm potencial imunológico, principalmente para prevenir doenças clínicas graves, que podem exercer uma enorme pressão sobre o sistema de saúde e, muitas vezes, levar à morte de pessoas infectadas (Castro, 2021). No Brasil, estudo realizado no primeiro trimestre de 2021

pelo Instituto Butantan em Serrana, São Paulo, mostrou que quase 96% da população da cidade foi exposta à vacina contra o coronavírus e o número de mortos na cidade foi reduzido em 95%. O diagnóstico de casos sintomáticos diminuiu 80%, enquanto o número de internações diminuiu 86%. Os resultados também mostram que a vacinação pode proteger adultos que receberam duas doses de imunização e crianças e adolescentes menores de 18 anos que não foram vacinados, devido a uma menor carga viral e o menor tempo de eliminação do vírus o que impacta diretamente na transmissibilidade. (Brito et al., 2021).

Um estudo feito por Brasil (2020), entre as semanas epidemiológicas (SE) 1 e 18 de 2020, registrou-se 107.895 hospitalizações por Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) no Brasil. Desse total, 27.086 (25%) eram casos confirmados de COVID-19. Dentre os casos de SRAG por COVID-19, 7.514 (28%) evoluíram para óbito. Em média, 41,8% dos pacientes com COVID-19 desenvolvem SDRAG. Os casos de SDRAG são leves (35,8%), moderados (45,3%) e graves (18,9%). A mortalidade aumenta conforme a gravidade da doença, sendo que as pessoas acima de 65 anos de idade apresentam maior grau de SDRAG e são mais vulneráveis ao óbito. No Brasil, o levantamento das hospitalizações apontou um crescimento importante das internações em decorrência de SRAG com o surgimento da pandemia, visto que se configura como uma complicação comum da COVID-19. Sendo assim, o acompanhamento das mudanças epidemiológicas da COVID-19 no Brasil (Tabela 1) e no mundo por análises estatísticas aponta que a doença ainda não está sob controle. (Sousa et al.,2020).

Comparação dos casos de COVID-19			
	Dez/20	Jun/21	Dez/21
Norte	17.443	43.223	1.918.208
Nordeste	46.485	105.257	4.937.825
Sul	20.011	78.188	4.334.339
Sudeste	85.323	238.193	8.648.119
Centro-Oeste	17.094	47.874	2.396.135

Tabela: 1 Comparações de casos positivos para COVID-19 nas cinco regiões do Brasil em três épocas distintas.

Fonte: Boletins Epidemiológicos do Ministério da Saúde

### **5.4.3 Minas Gerais**

Minas Gerais é um dos estados federais com maior número de casos e óbitos pela doença em 2021 (Souza et al., 2021). Minas Gerais é o estado com a segunda menor taxa per capita de detecção de coronavírus no Brasil. Sua capital, Belo Horizonte, registrou o primeiro caso de COVID-19 em 16 de março de 2020, porém somente em 20 de abril de 2020 que a Prefeitura de Belo Horizonte começou a emitir boletins epidemiológicos diários (Miranda et al., 2021).

Um estudo epidemiológico que correspondeu ao período de março de 2020 a julho de 2021, o Brasil era o terceiro país do mundo em número de casos de COVID-19 (18.386.894) e o segundo em número de óbitos (512.735). (Brasil, 2021; Moraes et al., 2021) Em Minas Gerais, no mesmo período, embora o número de casos eram de (1.966.524), observa-se que em comparação com os demais estados, ainda registra um número alto de óbitos (8.171, cerca 50.461). As cidades com mais casos em Minas Gerais eram: Uberlândia (106.956), Belo Horizonte (252.449), Contagem (40.749), Montes Claros (39.958) e Juiz de Fora (38.316) (Minas Gerais, 2021). As características epidemiológicas dos casos de óbito em Minas Gerais indicam que a população mista (44%) e os homens (57%) e os casos acima de 60 anos (80%) apresentam ligeira vantagem. Além disso, 75% dos casos apresentam algum tipo de comorbidades, sendo a cardiopatia (64%) a mais comum (Nascimento et al., 2021).

Nota-se que a Belo Horizonte ainda apresenta uma propensão de novas infecções diárias e que as políticas de isolamento e distanciamento social realmente sejam efetivas e colaboram para o controle e diminuição do número de reprodução efetivo da COVID-19. Nesse sentido, observa-se que a COVID-19 no âmbito do estado de Minas Gerais, apesar de uma estabilidade nos casos, ainda continua a ser um problema muito sério e complexo, e, portanto, os órgãos responsáveis precisam permanecer em alerta, principalmente no perfil epidemiológico apresentado (homem, pardo, acima de 60 anos com alguma comorbidades) para que a pandemia seja controlada efetivamente e não ocorra um novo aumento como já se observa em alguns países da Europa (Miranda et al., 2021; Nascimento et al., 2021).

## **5.5 Evolução**

### **5.5.1 Mecanismos de Evolução Viral**

Os vírus de RNA também são um dos principais grupos de patógenos associados a doenças infecciosas, e apresentam-se como importantes modelos que podem favorecer nossa compreensão do processo evolutivo. Em particular, a evolução dos vírus de RNA é caracterizada pela geração e fixação de mutações ao longo do tempo. Essas mutações são

adequadas para observação humana direta, o que contrasta com a maioria das mudanças evolutivas que ocorrem em organismos superiores. Portanto, os vírus de RNA fornecem um laboratório natural útil para a visualização em tempo real dos processos evolutivos, incluindo durante surtos de doenças únicas. A utilidade dos vírus de RNA em análises experimentais é aumentada por seus pequenos genomas, onde as mutações frequentemente levam a importantes efeitos fenotípicos. Portanto, não é surpreendente que os vírus de RNA tenham sido usados para testar várias teorias evolutivas e sejam exemplos poderosos de desenvolvimento de novos métodos de análise de bioinformática (Geoghegan e Holmes, 2018). Embora também haja uma grande quantidade de literatura sobre a evolução dos vírus de DNA, sua taxa de mudança evolutiva é geralmente baixa, comparada com os vírus de RNA (Geoghegan e Holmes, 2018).

Os vírus sofrem alterações genéticas por vários mecanismos, incluindo mutação pontual (a fonte final da variação genética) e recombinação. Em geral, os vírus de RNA têm genomas menores do que os vírus de DNA, provavelmente como consequência de suas taxas de mutação mais altas (Holmes, 2003). A razão para essa relação inversa entre o tamanho do genoma e a taxa de mutação deve-se a incapacidade de grandes vírus de RNA de se replicarem sem gerar mutações letais (Belshaw et al., 2007; Sanjuan et al., 2010). Em contraste, os vírus de DNA geralmente têm genomas maiores devido à maior fidelidade de suas enzimas de replicação (Pérez-Losada et al., 2015).

Os vírus de RNA são conhecidos por sofrerem rápidas mudanças genéticas. O mecanismo mais comum de mudança é por meio de substituições de nucleotídeos resultantes da frequência de erro, relacionada à alta taxa de erro durante a síntese de RNA pela enzima RNA polimerase dependente de RNA. Isso leva ao conceito de vírus de RNA sendo "quasispécies", que consistem em coleções de RNAs de vírions com sequências de nucleotídeos ligeiramente divergentes. Além disso, é responsável pela deriva de sequência de vários vírus de RNA sob certas pressões de seleção (Bentley e Evans, 2018).

Os vírus de RNA são onipresentes na natureza devido à sua capacidade de evoluir rapidamente e se adaptar a novos ambientes. Por sua vez, essa rápida evolução depende, em certa medida, da alta diversidade genética que serve como símbolo das populações de vírus de RNA. Esta diversidade se deve principalmente à natureza propensa a erros da RNA polimerase dependente de RNA viral (RdRp). No processo de replicação do genoma, eles irão introduzir substituições, inserções e deleções e, geralmente, a taxa de erro por nucleotídeo polimerizado é de  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$  (Bentley e Evans, 2018). No entanto, por meio de um processo



semelhante de rearranjo e recombinação em vírus de RNA segmentado, mutações em larga escala podem ser introduzidas na população de vírus, o que pode ocorrer em famílias de vírus de RNA segmentado e não segmentado (Bentley e Evans, 2018). Os vírus de RNA que contêm genomas segmentados também podem sofrer evolução genética por rearranjo dos segmentos de RNA. De acordo com a natureza do RNA envolvido e outros locais de cruzamento, a recombinação do RNA pode ser dividida em três tipos (Han e Worobey, 2011).

I) Recombinação homóloga ou legítima ocorre quando duas partículas virais semelhantes trocam segmentos homólogos de RNA em segmentos que ocupam a mesma posição no genoma (Vasconcelos e Figueiredo, 2017). II) Recombinação aberrante acontece quando duas partículas virais semelhantes (não iguais) permutam segmentos não homólogos no genoma, um mecanismo exclusivo de vírus de RNA e esta recombinação provoca uma grande alteração na estrutura genômica do patógeno (Thomas e Hassold, 2003). III) A recombinação ilegítima ou não homóloga são partículas virais distintas que trocam segmentos genômicos entre si. Portanto é um dos principais mecanismos de evolução dos vírus (Vasconcelos e Figueiredo, 2017).

A capacidade extraordinária de alguns vírus de se adaptarem a novos hospedeiros e ambientes depende muito de sua capacidade de gerar nova diversidade em um curto período de tempo. A taxa de mutação espontânea dos vírus varia muito. Os vírus de RNA mutam mais rápido do que os vírus de DNA, os vírus de fita simples mudam mais rápido do que os vírus de fita dupla e o tamanho do genoma parece estar negativamente correlacionado com a taxa de mutação. As taxas de mutação viral são reguladas em diferentes níveis, incluindo fidelidade da polimerase, contexto de sequência, estrutura secundária do modelo, microambiente celular, mecanismo de replicação, revisão e reparo pós-replicação. Além disso, alguns elementos geradores de diversidade codificados por vírus citidina/adenina desaminase codificados por hospedeiro podem introduzir um grande número de mutações (Sanjuán e Domingo-Calap, 2016).

A taxa de mutação de um organismo é definida como a probabilidade em que as alterações na informação genética sejam transmitidas para a próxima geração. Em vírus, uma geração é geralmente definida como o ciclo de infecção celular, incluindo adesão à superfície celular, penetração, expressão gênica, replicação, encapsidação e liberação de partículas infecciosas (Duffy et al., 2008; Sanjuán e Domingo-Calap 2016). As mutações não se limitam à replicação, pois também podem ser causadas por edição de material genético ou dano espontâneo de ácido nucléico. A taxa de mutação não deve ser confundida com a frequência

em que as mutações encontradas em uma determinada população de vírus (Sanjuán et al., 2016). Este último é uma medida de variação genética, que necessita de muitos outros processos, como seleção natural, deriva genética aleatória, recombinação e assim por diante. Uma taxa de mutação mais alta leva a uma maior diversidade genética, mas, a menos que em circunstâncias especiais, é impossível inferir a taxa de mutação diretamente da frequência de mutação observada na população. Embora a diversidade genética dependa de vários fatores, a taxa de mutação é particularmente interessante porque constitui a fonte final da variação genética. Da mesma forma, a taxa de mutação não deve ser confundida com a taxa de evolução molecular. A teoria neutra da evolução molecular assume que existe uma relação linear entre essas duas taxas, mas embora a mutação seja um processo bioquímico / genético, a evolução molecular se refere à fixação de novos alelos em uma população (Duffy et al., 2008; Sanjuán e Domingo-Calap 2016).

O conhecimento do processo por trás das taxas de mutação viral é importante para compreender e controlar a resistência aos medicamentos, escape imunológico, vacinação, patogênese e o surgimento de novas doenças. De acordo com a classificação de Baltimore para os vírus, as seguintes categorias são determinadas de acordo com o material genético contido no vírion: vírus de RNA de fita positiva (ex: hepatite C), vírus de RNA de fita negativa (ex: Ebola), vírus de RNA de fita dupla (ex: rotavírus), retrovírus (ex: HIV), vírus de DNA que realizam transcrição reversa (ex: hepatite B), vírus de DNA de fita simples (parvovírus) e vírus de DNA de fita dupla (ex: poxvírus) (Sanjuán e Domingo-Calap, 2016). Os vírus são o sistema biológico com a maior alteração na taxa de mutação, e a diferença entre os vírus de RNA e DNA é a maior. Os vírus de DNA de fita simples tendem a sofrer mutação mais rápido do que os vírus de DNA de fita dupla, embora essa diferença seja baseada em estudos de bacteriófagos, porque nenhuma estimativa da taxa de mutação dos vírus de DNA de fita simples está disponível. Portanto, a taxa de mutação do vírus não é causada apenas por erros de polimerase, mas também pela capacidade do vírus de corrigir incompatibilidades de DNA por meio de correção e / ou reparo pós-replicação (Copolla et al., 2015; Sanjuán et al., 2010).

### 5.5.2 Filogenia

A busca pelas origens humanas parecia dar um passo adiante com o lançamento da árvore global do DNA mitocondrial humano. No entanto, logo ficou claro que o método de construção de árvores não permitia uma interpretação clara dos dados. Isso levou ao desenvolvimento de métodos de rede filogenética que podem visualizar um número infinito

de árvores ótimas no início da década de 1990. Esta abordagem de rede, com base em dados mitocondriais e do cromossomo Y, nos permitiu reconstruir movimentos populacionais pré-históricos que povoaram o planeta. A abordagem da rede filogenética de 2003 foi usada para reconstruir a pré-história da linguagem. Agora é a hora de aplicar a abordagem de rede filogenética aos dados virológicos para examinar como esse método pode ajudar a entender a evolução do coronavírus (Forster et al., 2020). A epidemia de SARS aumentou o interesse na pesquisa sobre a biodiversidade e genômica do coronavírus. Antes de 2003, existiam somente 10 coronavírus com genomas completos disponíveis (Woo et al., 2009). Após a epidemia de SARS, até dezembro de 2008, tivemos um aumento de 16 coronavírus com genomas completos sequenciados, nos quais incluem dois coronavírus humanos (coronavírus humano NL63 e coronavírus humano HKU1), 10 outros coronavírus de mamíferos [coronavírus SARS de morcego, coronavírus de morcego (morcego-CoV) HKU2, morcego-CoV HKU4, morcego-CoV HKU5, morcego-CoV HKU8, morcego CoV HKU9, morcego-CoV 512/2005, morcego-CoV 1A, coronavírus equino e coronavírus de baleia beluga] e quatro coronavírus aviários (coronavírus de peru, coronavírus bulbul HKU11, coronavírus de sabiá HKU12 e coronavírus de pássaro manon HKU13) (Woo et al., 2009). Recentemente, foi relatado um coronavírus de morcego intimamente relacionado com 96,2% de similaridade de sequência com vírus humanos. Recentemente, o Coronavirus Study Group do International Committee for Taxonomy of Viruses (ICTV) propôs três gêneros, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus* e *Gammacoronavirus*, (figura 8) para substituir os grupos tradicionais 1, 2 e 3 coronavírus (Zhou et al., 2020).

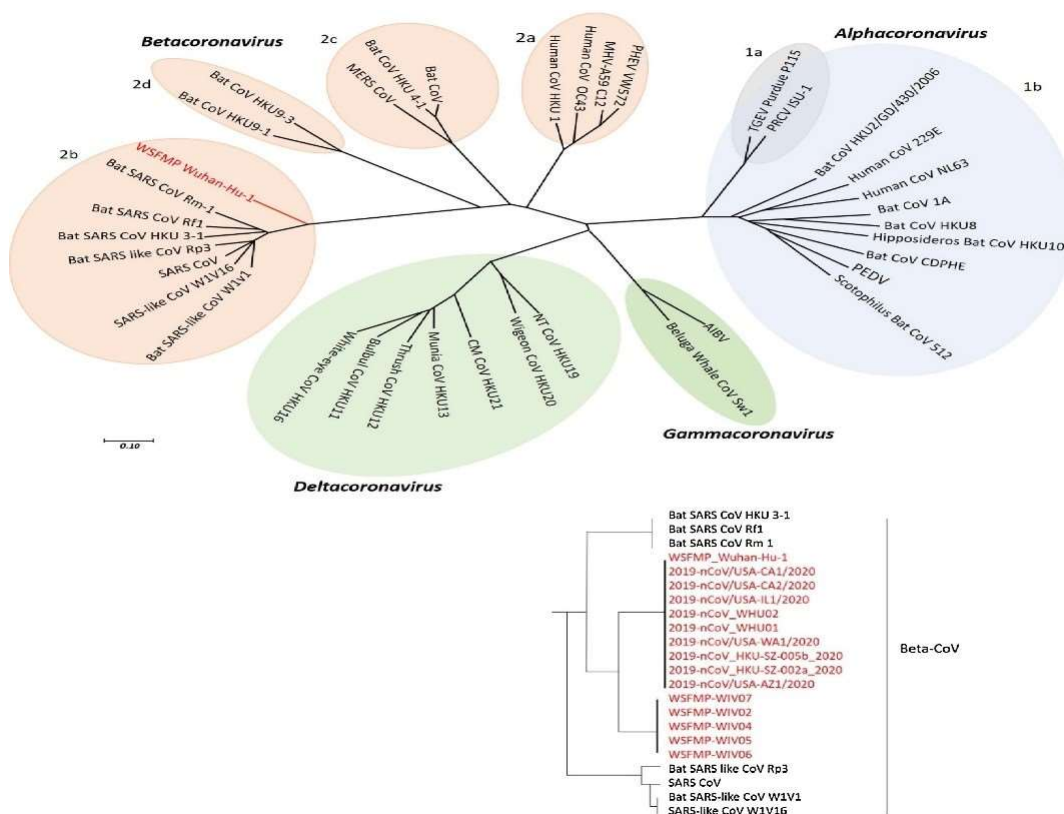


Figura 8: Árvore filogenética dos coronavírus. Árvore filogenética de coronavírus (o conteúdo em vermelho é a mais recente adição do SARS-CoV-2 recém-surgido e o WSFMP Wuhan-Hu-1 é usado como referência na árvore); A árvore filogenética que mostra a relação de Wuhan-Hu-1 (indicada em vermelho) com o coronavírus selecionado é baseada em sequências de nucleotídeos do genoma completo. Os vírus são agrupados em quatro gêneros (protótipo mostrado): Alphacoronavirus (azul celeste), Betacoronavirus (rosa), Gammacoronavirus (verde) e Deltacoronavirus (azul claro). Os grupos de subgrupos são rotulados como 1a e 1b para o Alphacoronavirus e 2a, 2b, 2c e 2d para o Betacoronavirus. Esta árvore é baseada nas árvores publicadas de Coronavirinae e reconstruída com sequências da região codificadora de RNA polimerase dependente de RNA completa dos novos coronavírus representativos (método de máxima verossimilhança usando o software MEGA 7.2). coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV); coronavírus relacionado à SARS (SARSr-CoV); o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV); vírus da diarreia entérica suína (PEDV); Pneumonia do mercado de frutos do mar de Wuhan (Wuhan-Hu-1). Bat CoV RaTG13 Mostrou alta identidade de sequência para SARS-CoV-2. Fonte: Shereen et al, 2020

De acordo com Silva e Almeida foram encontradas 99 sequências completas de SARS-CoV-2 lançado em 25 de março de 2020. Os vírus foram isolados em 13 países e dos

99 encontrados, 51% são dos Estados Unidos, 30% da China, 4% da Espanha, 3% da Taiwan, 2% Índia, 2% Vietnã e 1% Coreia, Coreia do Sul, Paquistão, Austrália, Brasil, Suécia e Nepal em cada país. O principal material biológico utilizado para o isolamento do RNA viral foi o lavado broncoalveolar (Silva e Almeida, 2020). Para o cálculo da identidade, foi realizada uma comparação de sequências emparelhadas usando, a sequência de referência utilizada foi NC045512, a primeira a ser publicada no início do surto de COVID-19, em dezembro de 2019, em Wuhan, China. A análise da árvore filogenética do SARS-CoV-2 encontrada nesta pesquisa mostra uma estreita relação evolutiva entre os vírus sequenciados no Brasil e na Itália, por serem do mesmo clado (Figura 9).

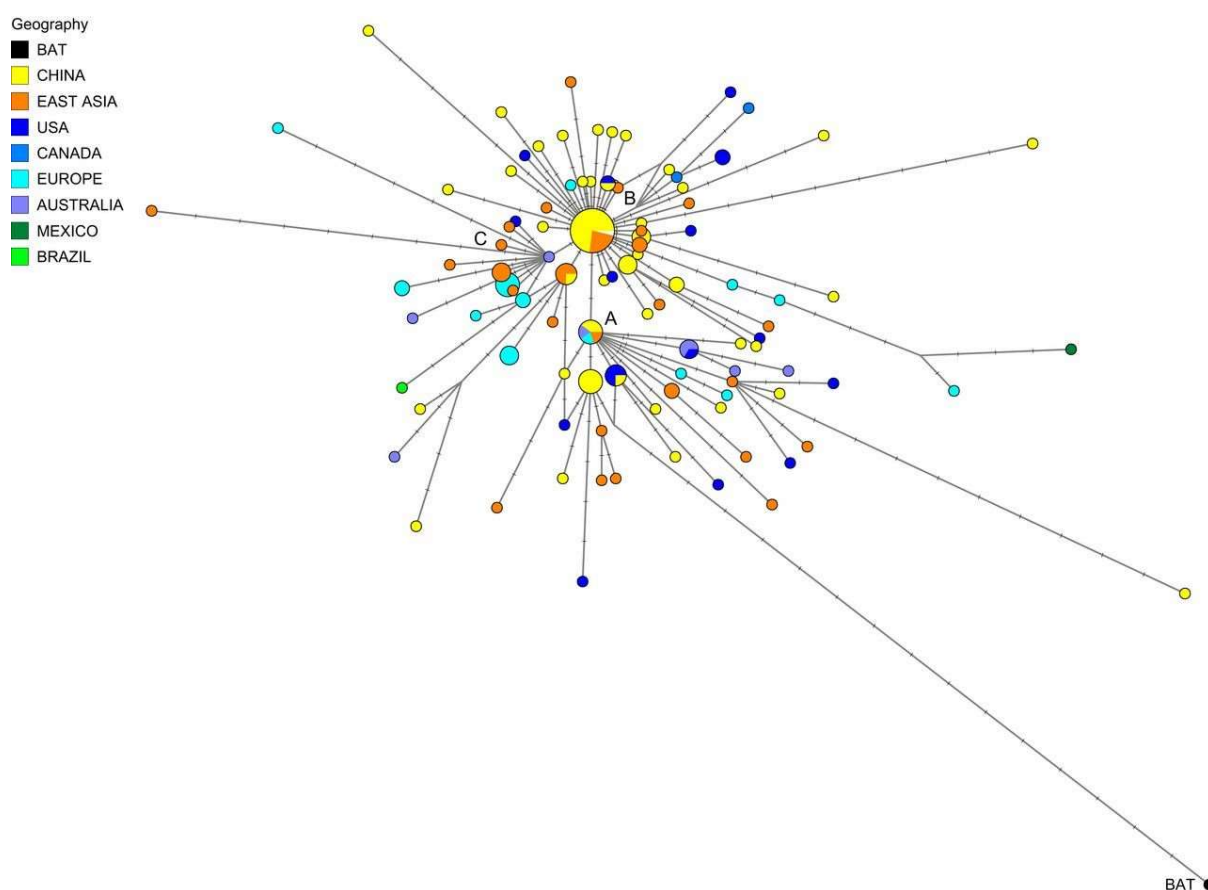


Figura 9: Mapa filogenético: Rede filogenética de 160 genomas de SARS-CoV-2. O nó A é o conglomerado de raízes obtido do isolado de coronavírus de morcego BatCoVraTG13 da província de Yunnan. As áreas dos círculos são proporcionais ao número de taxa, e cada entalhe nas ligações representa uma posição de nucleotídeo mutado. O intervalo de sequência em consideração é de 56 a 29.797, com numeração de posição de nucleotídeo (np) de acordo com a sequência de referência Wuhan 1. Foram utilizados o algoritmo de rede de junção mediana e o algoritmo de Steiner, ambos implementados no pacote de software Network5011CS, com o parâmetro epsilon definido como zero, gerando esta rede contendo 288 árvores mais parcimoniosas com 229 mutações de comprimento. As reticulações são causadas principalmente por mutações recorrentes em np11083. Os 161 táxons

(160 vírus humanos e um vírus de morcego) produzem 101 sequências genômicas distintas. (Fonte: Forster et al., 2020).

Foi possível verificar que todas as sequências têm mais de 99% de identidade para a sequência de referência. Além disso, apenas um sequenciamento apresentou 100% de identidade com a sequência de referência (MN908947), publicado na China em 18 de março de 2020. O país que apresentou o sequenciamento com maior percentual de identidade foram os EUA, com 99,98% (MT163719), lançado em 6 de abril. O primeiro sequenciamento publicado no Brasil, 6 de abril (MT126808) apresentava uma identidade de 99,90%. A taxa de similaridade entre SARS-CoV-2 e Betacoronavirus foi maior que 47,97%. Em 40% de outros Betacoronavirus tendo uma similaridade maior que 55% e 6% dos Betacoronavirus mostrou uma similaridade com SARS-CoV-2 maior que 80% (Silva e Almeida, 2021).

Uma pesquisa conduzida por Guo e colaboradores, em comparação com o sequenciamento do genoma SARS-CoV-2 de RaTG13, uma similaridade de 96,2% foi encontrada, indicando que o genoma do morcego (Bat-SL-CoVZC45 e Bat-SL-CoVZXC21) e o genoma humano podem compartilhar um ancestral comum (Guo et. al., 2020). Além disso, comparando sequências de proteínas e análises filogenéticas, resíduos semelhantes a receptores foram observados em muitas espécies, indicando a possibilidade de substituição de hospedeiros intermediários, como tartarugas, pangolins e cobras (Silva, Simonato e Ramos, 2020). Outro fator importante é que a similaridade do genoma SARS-CoV-2 dos pangolins (pangolin-CoV GD / P1L e pangolin-CoV GD / P2S) vendidos ilegalmente na China é de 85,5% a 92,4% (Malik, 2020; Lam, 2020). Em outra análise filogenética do SARS-CoV-2 o caracteriza como betacoronavírus distantes do SARS-CoV em 79% e do MERS CoV em 50% (Zanardini e Zanardini, 2021). Portanto, com o processo evolutivo, o SARS-CoV-2 pode infectar diferentes espécies, em humanos através da proteína de membrana (ACE2), e apresenta tendência a infectar mais homens do que mulheres e mais adultos do que crianças, porém é mais mortal para idosos com outras doenças.

Como todos sabemos, os homens são mais suscetíveis à gripe e ao resfriado comum do que as mulheres da mesma idade. Dois outros coronavírus que também causam doenças respiratórias graves, como SARS-CoV-2, SARS-CoV e MERS-CoV, sua identidade de nucleotídeo é igual ao SARS-CoV-2, um total de 79 e 50% de similaridade respectivamente, visam a ser mais mortais a homens do que as mulheres (Tomasović et al., 2021).

Além dos fatores de estilo de vida, as diferenças específicas de gênero na suscetibilidade ao coronavírus e nos resultados da doença são causadas por diferenças de

gênero nas respostas imunes inatas e adaptativas. Uma das explicações para essa diferença de gênero na suscetibilidade ao COVID-19 são os cromossomos: os cromossomos X contêm mais genes relacionados ao sistema imunológico do que os cromossomos Y, e a ativação desses genes leva a uma resposta imunológica mais forte a infecções virais em mulheres. Outra explicação são os hormônios: hormônios como o estrogênio, que as mulheres produzem mais do que os homens, ajudam a combater os coronavírus, como MERS-CoV, SARS-CoV e SARS-CoV-2 (Conti e Younes, 2020).

Os estudos de infecção e manejo clínico relatam diferenças de gênero na gravidade da doença e no resultado do COVID-19. No entanto, no processo de evolução, quando um vírus se introduz em uma nova espécie, ele primeiro causa doenças mais sérias e, em seguida, passa por um processo de adaptação mais brando para que possa transmitir seus genes (Silva e Almeida, 2020; Wu et al., 2020; Shi et al., 2020).

## **5.6 Variantes SARS-CoV-2**

### **5.6.1 Variante de preocupação**

Todos os vírus sofrem mutação e, eventualmente, produzem novas variantes, incluindo o SARS-CoV-2. Quando ocorre a replicação do vírus, essas mudanças genéticas ocorrem para que ele se espalhe cada vez mais em nosso corpo, porém isto não é sempre. Dentre essas mutações, algumas não possuem significância (pressão de seleção negativa), enquanto outras podem torná-las mais virulentas para humanos e facilitar a transmissão (pressão de seleção positiva). Até no momento da identificação do SARS-CoV-2 e até o mês de janeiro de 2022, já foram mais de 7,5 milhões sequências completas do genoma, através de dados de base de acesso público (Michelon, 2021). No Brasil, a rede do genoma da Fiocruz identificou mais de 60 genomas de vírus. (Michelon, 2021; Freitas, Giovanetti e Alcântara, 2021).

A OMS, em colaboração com parceiros, redes de especialistas, autoridades nacionais, instituições e pesquisadores tem monitorado e avaliado a evolução da SARS-CoV-2 desde janeiro de 2020. Durante o final de 2020, o surgimento de variantes que representavam um risco maior para a saúde pública global solicitou a caracterização de Variantes de Interesse (VOIs), do inglês *Variants of Interest*) e Variantes de Preocupação (VOCs do inglês *Variants of Concern*) específicas, a fim de priorizar o monitoramento e a pesquisa global e, em última análise, informar a resposta em andamento à pandemia da COVID-19 (WHO, 2021). A OMS e suas redes internacionais de especialistas estão monitorando as mudanças no vírus para que, se substituições significativas de aminoácidos forem identificadas, possam informar os países e o público sobre quaisquer mudanças que possam ser necessárias para responder à variante e

prevenir sua disseminação. Reduzir a transmissão por meio de métodos / medidas de controle de doenças comprovadas e estabelecidas, bem como evitar a introdução em populações animais, são aspectos cruciais da estratégia global para reduzir a ocorrência de mutações que têm implicações negativas para a saúde pública (WHO, 2021)

As estratégias e medidas atuais recomendadas pela OMS como distanciamento e isolamento social, uso de máscaras cobrindo nariz e boca, higiene das mãos e superfícies com soluções à base de álcool (>65%), continuam a funcionar contra as variantes do vírus identificadas desde o início da pandemia (Soares et al., 2021). Evidências de vários países com transmissão extensa de CoVs indicaram que medidas de saúde pública e sociais (PHSM), incluindo medidas de prevenção e controle de infecção (IPC), foram eficazes na redução de casos de COVID-19, hospitalizações e mortes. As autoridades nacionais e locais são encorajadas a continuar a fortalecer as medidas existentes de PHSM e IPC. As autoridades também são incentivadas a fortalecer as capacidades de vigilância e sequenciamento e a aplicar uma abordagem sistemática para fornecer uma indicação representativa da extensão da transmissão das variantes do SARS-CoV-2 com base no contexto local e para detectar eventos epidemiológicos incomuns. (WHO, 2021).

A OMS atribuiu nomenclaturas simples, fáceis de pronunciar e lembrar para as principais variantes do SARS-CoV-2, utilizando letras do alfabeto grego. A OMS atribuiu nomenclaturas às variantes designadas como VOI ou VOC. As nomenclaturas não substituem nomes científicos existentes (por exemplo, aqueles atribuídos pelas iniciativas GISAID, Nextstrain e Pango), que transmitem informações científicas importantes e continuarão sendo usadas em pesquisas.

Uma variante do SARS-CoV-2 que atende à definição de uma VOC (Tabela 1) e, por meio de uma avaliação comparativa, demonstrou estar associada a uma ou mais das seguintes alterações em um grau de significância para a saúde pública global: (1) Aumento da transmissibilidade ou alteração prejudicial na epidemiologia da COVID-19; (2) Aumento da virulência ou mudança na apresentação clínica da doença; (3) Diminuição da eficácia das medidas sociais e de saúde pública ou diagnósticos, vacinas e terapias disponíveis.



Tabela 2: Variantes de Preocupação

World Health Organization label	PANGO lineage*	First discovered in:
Alpha	B.1.1.7	United Kingdom
Beta	B.1.351	South Africa
Gamma	P.1	Brazil
Delta	B.1617.2	India
Omicron	B.1.1.529	South Africa

Fonte: Public Health Ontario

### 5.6.1.1 Variante Alpha

Em 14 de dezembro de 2020, departamentos do Conselho de Estado do Reino Unido notificaram à OMS uma variante designada pelo Reino Unido como SARS-CoV-2 VOC 202012/01 ou B.1.1.7 (OPAS/OMS, 2021). O Reino Unido possui um sistema de vigilância da COVID-19 que inclui perfis genômicos sobre a COVID19 Genomics Consortium UK (CoGUK). Como parte de uma pesquisa epidemiológica que investiga a tendência crescente de casos de COVID-19 que se iniciou em setembro de 2020 no Reino Unido, foram analisados os dados genômicos de 255 casos disponíveis em Kent, Inglaterra (um condado no Sudeste) (Chand et al, 2020). Um grande agrupamento filogenético de 117 casos genomicamente semelhantes foi descoberto a partir de amostras de 255 casos nos dados de Kent coletados entre 10 a 18 de novembro, que eram bem diferentes do restante do conjunto de dados do Reino Unido (Rambaut et al., 2020; Kim et al., 2021). No conjunto de dados britânico (genomas disponíveis de 915 casos na data de análise de 8 de dezembro de 2020), um grupo diferente de Kent foi observado principalmente a partir de novembro (828 casos, 90,5%) e em menor medida em outubro (79 casos, 8,6 %), os primeiros registros em setembro (4 casos, 0,4%). As duas primeiras amostras foram coletadas de Kent em 20 de setembro e da grande Londres em 21 de setembro de 2020 e as amostras continuaram a ser detectadas até o início de dezembro de 2020. A variante envolve mutações ou deleções não sinônimas (por exemplo, N501Y, deleção 69/70, P681H e a mutação do códon de parada da ORF8) no domínio de ligação do receptor (RBD) da proteína spike, que pode induzir um aumento da afinidade do receptor ACE2 de a proteína de pico de SARSCoV2 nas vias aéreas. (Kim et al., 2021)

A variante B.1.1.7 foi significativamente mais transmissível do que outras variantes de SARS-CoV-2 no Reino Unido se espalhando rapidamente pelo mundo, causando um aumento repentino de casos infectados. Como resultado, severas restrições a viagens e bloqueios de estradas nacionais foram postas em prática em muitos países (Rambaut et al., 2020; Chand et al., 2020; Starr et al., 2020). Desde a primeira semana, quando a B.1.1.7 foi relatada no Reino Unido e em todos os continentes, o número de dias necessários para atingir uma taxa positiva de 20% nas sequências enviadas ao GISAID foi de 47 dias no Reino Unido, 59 dias na Oceania, e 83 dias na Europa (excluindo o Reino Unido) e 89 dias na América do Norte. O Reino Unido encontrou o aumento mais rápido para 50% desde o primeiro relatório há uma semana, seguido pela Europa (excluindo o Reino Unido), América do Norte e Oceania, que levou 84 dias, 116 dias e 125 dias, respectivamente (Kim et al., 2021).

A média geral de B.1.1.7 é de 178 dias, que é 50% da sequência relatada pelo GISAID. Na Ásia, a taxa de crescimento de B.1.1.7 foi inferior à média global: atingiu uma taxa de crescimento positiva de 20% de B.1.1.7 em 140 dias, e não atingiu 50% em 12 de dezembro. Maio de 2021 (Kim et al., 2021). B.1.1.7 é definido por 23 mutações genéticas da cepa original que foi detectada pela primeira vez em Wuhan, China. Além do ácido aspártico (D) para a mutação da glicina (G) na posição 614 (D614G) do pico da proteína de superfície (S), que domina os casos COVID-19 relatados desde o verão de 2020, B.1.1.7 contém oito mutações adicionais na proteína S. A mutação asparagina (N) para tirosina (Y) na posição 501 (N501Y), localizada no motivo de ligação ao receptor (RBM), que faz parte do RBD que está relacionado com as interações físicas diretas com ACE2 humano para iniciar a entrada viral nas células hospedeiras. B.1.1.7 contém oito mutações adicionais na proteína S.

A mutação asparagina (N) para tirosina (Y) na posição 501 (N501Y), localizada no motivo de ligação ao receptor (RBM), que faz parte do RBD, é particularmente interessante que está envolvida em interações físicas diretas com ACE2 humano para iniciar a entrada viral nas células hospedeiras (Hoffman et al., 2020). Embora as implicações funcionais das mutações restantes ainda não tenham sido estabelecidas, a deleção de histidina 69 e valina 70 ( $\Delta$ H69 / V70) dentro do domínio N-terminal (NTD) da proteína S também está presente na variante associado ao vison, detectado na Dinamarca, que causou transmissões zoonóticas para infectar humanos, resultando no massacre de mais de 17 milhões de visons em novembro de 2020 (Munnink, 2021). Uma mutação de prolina em histidina na posição 681 (P681H) imediatamente a montante do local de clivagem da furina polibásica pode afetar o

processamento da proteína S, que é importante para a fusão e entrada na membrana viral. Pouco se sabe sobre as contribuições potenciais das mutações restantes (Yang et al., 2021).

Até o momento, a cepa foi encontrada em 70 países / regiões, dos quais 29 países / regiões têm transmissão local. É responsável pela deterioração da situação epidemiológica no Reino Unido, Portugal e outros países europeus entre dezembro de 2020 e janeiro de 2021. No Brasil foi detectada em 14 UF brasileiras: Paraíba, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal e Rio Grande do Sul (Brasil, Informe semanal nº 23).

Uma descoberta preocupante relacionado a esta linhagem, foi o aumento da proporção de casos entre crianças e jovens (Freitas et al., 2021). Entre 1 de março e 31 de maio de 2020, 20 crianças e jovens (com 18 anos ou menos e SARS-CoV-2 positivo) foram admitidos no King's College Hospital e entre 1 de novembro de 2020 e 19 de janeiro de 2021, foram admitidas 60 crianças e jovens. Não houve diferenças significativas na idade, porcentagem de pacientes com comorbidades, porcentagem de pacientes negros, asiáticos e de minorias étnicas ou pontuação de privação entre os grupos. A assistência ventilatória foi rara em ambas as ondas e foi menor na taxa de hospitalização total na segunda onda do que na primeira (Brookman et al., 2021). Embora os primeiros relatórios não tenham encontrado nenhuma evidência de impacto na gravidade da doença, uma atualização emitida pela Agência de Saúde Pública NERVTAG (Grupo Consultivo de Ameaças de Vírus Respiratórios Emergentes) em janeiro de 2021 um estudo de corte constatou que, em comparação com casos não B.1.1.7, o risco relativo de morte para indivíduos infectados com cepas B.1.1.7 foi de 1,65. (Rambaut et al., 2021; P, Horby et al., 2020).

De acordo com um estudo publicado da revista *The Lancet*, os pacientes que sofrem de episódios da variante Alfa apresentam um risco maior de admissão na UTI (Unidade de Terapia Intensiva) e mortalidade em 28 dias, se comparados com pacientes com cepas não-alfa do vírus. O estudo também afirma que, para aqueles que recebem cuidados intensivos, “a mortalidade parece ser independente da cepa do vírus” (Patone et al., 2021).

#### **5.6.1.2 Variante Beta**

Em 18 de dezembro de 2020, as autoridades nacionais da África do Sul anunciaram a detecção de uma nova variante do SARS-CoV-2 denominada B.1.351 (ou 501Y.V2), devido à presença da mutação N501Y (OPAS/OMS, 2021). Admite-se que o aumento naquele período de casos COVID-19 em todo o Reino Unido tenha sido causado principalmente por uma nova variante do SARS-CoV-2 altamente transmissível (B.1.1.7 / VUI-202.012 / 01), mas outra

variante do SARS-CoV-2 também altamente transmissível, a B.1.351 / 501Y.V2 da África do Sul já detectada na população do Reino Unido (Tegally et al., 2021; Louis et al., 2021; Freitas et al., 2021). Em 11 de janeiro de 2021, a África do Sul fechou 20 travessias de fronteira terrestre para entrada e saída geral até 15 de fevereiro, quando os casos de COVID-19 aumentaram devido à propagação de uma nova variante do SARS-CoV-2.

Infecções e mortes aumentaram, especialmente quando as pessoas retornaram ao trabalho após o período de festas de fim de ano (Pearson et al., 2021) Como o centro econômico regional, a África do Sul é um local atrativo para diversos migrantes. As passagens de fronteira domésticas são muito cheias, principalmente as seis mais movimentadas: Beitbridge, Lebombo, Maseru Bridge, Oshoek, Ficksburg e Kopfontein. Muitas pessoas foram expostas a infecções por COVID-19 enquanto esperavam várias horas para cruzar a fronteira. A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) avisou que as restrições atingiram Lesoto de forma particularmente forte, que importa a maior parte dos seus bens e serviços da África do Sul, segundo a qual mais de 580.000 pessoas numa população de 2,2 milhões de habitantes encontram-se em situação de insegurança alimentar. (Tegally et al., 2021).

Na África do Sul, a COVID-19 já causou a morte mais de 37.000 pessoas e mais de 1,3 milhão de casos de COVID-19 foram registrados nos últimos 10 meses. Mais de 148 mil pessoas foram internadas no hospital com a doença. Uma nova variante do SARS-CoV-2 (501Y. V2) que foi descoberta pela primeira vez na África do Sul aumentou a preocupação com novas infecções. Em novembro de 2020, os médicos alertaram os cientistas sul-africanos sobre um rápido aumento no número de pessoas com COVID-19 na região de Nelson Mandela Bay, na província de Eastern Cape, levando à identificação de uma nova variante do vírus na África do Sul. Desde 1º de janeiro de 2021, o país registrou quase 190.000 novas infecções por SARS-CoV-2 e mais de 90.000 mortes por COVID-19 até dezembro de 2021 (O'Toole et al., 2021).

O Escritório Regional da OMS para a África afirma que a nova variante em circulação na região foi detectada em Botswana, Gâmbia e Zâmbia, mas estudos preliminares não mostram evidências de que essa variante cause doenças mais graves (O'Toole et al., 2021). A segunda onda de epidemia de SARS-CoV-2 na África do Sul teve início em meados de outubro de 2020, algumas semanas após o número de casos registrados todos os dias após o primeiro pico (Tegally et al., 2021).

A África do Sul relatou seu primeiro caso confirmado por PCR de infecção por SARS-CoV-2 em 5 de março de 2020 e, desde então, experimentou uma primeira onda, com pico em julho de 2020, e uma segunda onda maior, em janeiro de 2021. Pico, em junho 2021, entrando na terceira onda. Um estudo feito nas semanas de 5 de março de 2020 até 27 de março de 2021 um total de 1.545.431 casos de SARS-CoV-2 e 227.932 internações por COVID-19 foram relatados na África do Sul. Dois períodos de onda foram identificados e cinco períodos de onda definidos: pré-onda 1, onda 1, pós-onda 1, onda 2 e pós-onda 2. Após o pico da primeira onda de casos na semana epidemiológica 28, houve um ressurgimento começando na província de Eastern Cape a partir da semana 40, seguido por todas as outras províncias posteriormente, atingindo o pico na semana 1 de 2021 (Jassat et al., 2021) (figura 10).

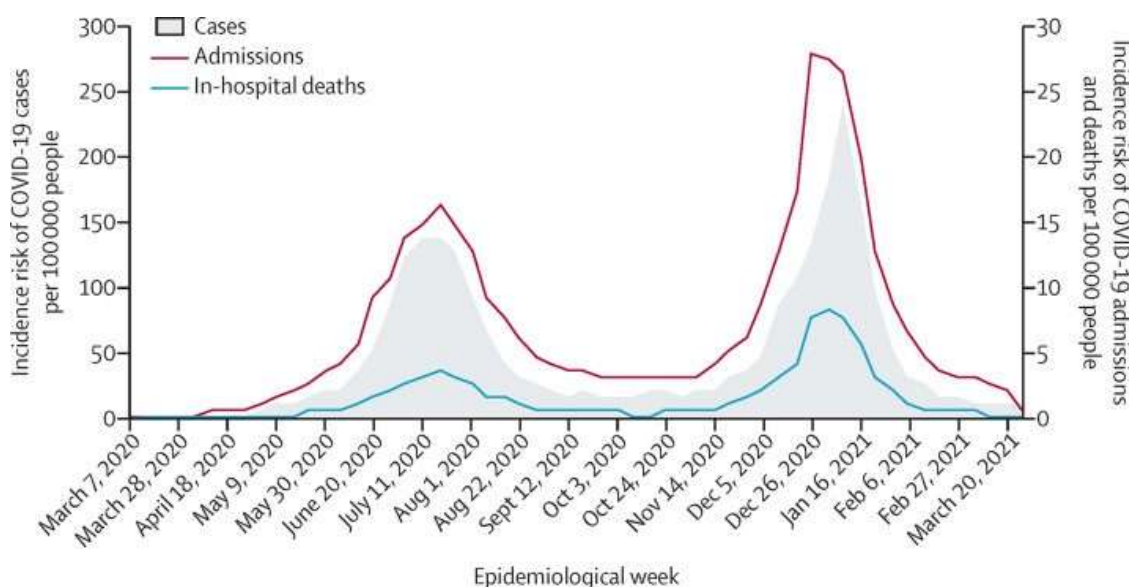


Figura 10: Incidência de casos relatados de SARS-CoV-2, internações por COVID-19 e mortes hospitalares por semana epidemiológica de diagnóstico na África do Sul, 5 de março de 2020 a 27 de março de 2021 (Jassat et al., 2021).

No pico da epidemia nacional em meados de julho de 2021, havia mais de 13.000 casos confirmados todos os dias e quase 7.000 mortes em excesso todas as semanas. Os perfis epidemiológicos das três províncias (Eastern Cape, Western Cape e KwaZulu-Natal) focados nesta análise são aproximadamente próximas, embora Western Cape tenha aparecido cada vez mais cedo na primeira onda (Tegally et al., 2021). No final da primeira onda da epidemia no início de setembro, o número de mortos no Cabo Oriental ultrapassou 10.000 (1510 por milhão de pessoas) - o maior entre todas as províncias. Para conter a propagação da segunda onda, a África do Sul sustentou as restrições como a proibição da venda e circulação de álcool

e um limite no número de pessoas autorizadas a comparecer às reuniões públicas. A maioria das reuniões internas e externas permanecem proibidas, incluindo eventos religiosos e políticos, mas não funerais - apesar das evidências de um risco aumentado de transmissão nesses eventos - que são limitados a 50 pessoas e protocolos rígidos, incluindo distanciamento físico, higienização das mãos e uso de máscara (Makoni, 2021).

A variante sul-africana 501Y.V2 é caracterizada por três mutações na proteína S: K417N (uma substituição de lisina por asparagina na posição de aminoácido 417 na proteína S), E484K (um ácido glutâmico por lisina substituição na posição de aminoácido 484 na proteína S) e N501Y (uma substituição de asparagina por tirosina na posição de aminoácido 501 na proteína S). Esta última mutação também está presente na variante UK VUI-202.012 / 01. (Tang et al., 2021; Nelson et al., 2021).

Uma hipótese sobre a origem dessa variante é através da evolução viral intra-hospedeiro devido à infecção prolongada em um hospedeiro imunocomprometido. De fato, neste relato de caso, o aparecimento das mutações E484K e N501Y foi descrito após 75 e 128 dias de infecção, respectivamente. Entretanto, este não deve ser o único mecanismo, já que várias outras mutações estão presentes que impuseram contribuições de outras linhagens virais. Mutações adicionais em outros genes virais também são possíveis de serem mutações secundárias que podem ter surgido como mutações 'compensatórias' para reduzir qualquer penalidade de aptidão resultante dessas alterações na proteína S (K417N, E484K, N501Y) (Tang et al., 2020; Choi et al., 2020). A variante 501Y.V2 foi considerada uma cepa altamente transmissível devido à rapidez com que se tornou predominante nesta população sul-africana em apenas algumas semanas, (Tang et al., 2020).

### 5.6.1.3 Variante Gamma

A pandemia COVID -19 criou uma crise crítica global, em um número alto de mortos, uma crise econômica e social. A pandemia afetou severamente as regiões da América Latina e do Caribe. Nessa região, o primeiro caso foi registrado no Brasil e tornou-se o primeiro país da América Latina a declarar a doença em 25 de fevereiro de 2020. No final de 2020, uma nova variante do SARS-CoV-2 foi encontrada no Brasil. Esta variante foi identificada como linhagem P.1 (B.1.1.28.1). As mutações essenciais na espícula incluem a glicoproteína RBD, E484K, K417T e N501Y (Burki, 2020; Martinez-Valle, 2021). Um estudo feito por Faria et al. relataram dez mutações únicas acumuladas na proteína S, que compreende E484K e N501K. Além dessas três mutações significativas, algumas outras mutações são registradas na

linhagem P.1. Essas mutações são L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, D614G H655Y, T1027I e V1176F. Esta variante foi detectada pela primeira vez no Japão por quatro viajantes, que voltaram do estado do Amazonas em 2 de janeiro de 2021 e acabou criando infecções extensas na cidade. A variante também chegou ao Japão por meio de viajantes. Também foi detectado nos Estados Unidos, que posteriormente identificada como Gamma segundo a nomenclatura utilizada pela OMS (Faria et al., 2021).

Imediatamente após a descoberta da variante, as autoridades de saúde pública alertaram para o risco potencial da doença por coronavírus (COVID-19) se espalhar mais rapidamente ou piorar os resultados clínicos. A proporção de amostras de pacientes com COVID-19 de Manaus (capital do estado do Amazonas, região norte do país) identificadas como a cepa P.1 aumentou de 52,2% em dezembro para 85,4% em janeiro de 2021. Nesse contexto, um aumento repentino no número de pessoas internadas com COVID-19 em Manaus fez com que o sistema de saúde local entrasse em colapso (Freitas, 2021).

Estudos preliminares estimam que a linhagem P.1 pode ser 1,4 a 2,2 vezes mais contagiosa que seus precursores, o que pode ajudar a explicar a rápida deterioração da epidemiologia na região (Freitas, 2021). No segundo trimestre do ano de 2020 (primeira onda), foram registrados 46.342 casos, já em janeiro de 2021(segunda onda), após a detecção

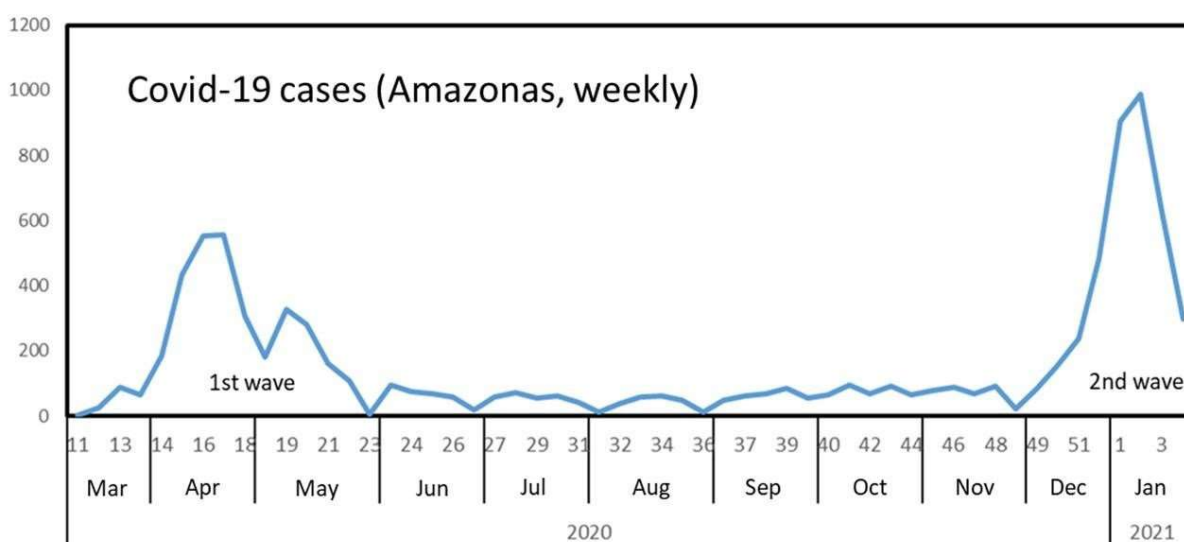


Figura 11: Casos semanais confirmados de COVID-19 no Estado do Amazonas (março de 2020 a janeiro de 2021) (Fonte: Freitas et al., 2021)

As três variantes recentes do SARS-CoV-2 que circularam amplamente na América Latina durante o primeiro semestre de 2021 incluem a linhagem P.1, a linhagem P.2 e a linhagem B.1.1.7. Todos os países latino-americanos se concentraram nas variantes do Brasil para lidar com a crise pandêmica COVID-19 de forma eficiente. Análise de dados da rede Fiocruz Genomics, reúne pesquisadores de diversas áreas Instituto Fundação Osvaldo Cruz, confirmaram que desde o aparecimento das linhagens P.1 e P.2 em outubro de 2020, em apenas quatro meses estas linhagens equivaliam a 75% de todas as linhagens analisadas em. Na cidade de Manaus estas duas linhagens juntas corresponderam a 97,8% das amostras de vírus que foram sequenciadas em janeiro 2021 (Voloch et al., 2021).

Os esforços de sequenciamento da variante P.1 foram com uma menor intensidade no Brasil do que para a variante B.1.1.7 no Reino Unido. Estudos indicam que a variante havia sido detectada em apenas 940 casos de 26 países, com apenas dois eventos de exportação relatados, para Japão e Itália, contudo são necessários mais dados sobre a presença global da variante P.1 e sobre sua dinâmica de disseminação (Fujino et al., 2021; Maggi et al., 2021; Campoy 2021).

Portanto, uma melhoria das agências reguladoras de saúde latino-americano é essencial para gerar mais dados sobre as variantes brasileiras do SARS-CoV-2. No entanto, são necessárias mais pesquisas sobre a variante P.1, que pode nos informar sobre as propriedades como características epidemiológicas (transmissibilidade da gravidade e risco de reinfeção), escape imunológico de impacto, provável impacto na gravidade da doença, estes dados ajudarão a projetar estratégias futuras e a acabar com a pandemia (Chackaraborty et al., 2021).

#### **5.6.1.4 Variante Delta**

A variante Delta (B.1.617.2) foi relatada pela primeira vez na Índia em dezembro de 2020, e tornou a variante mais temida devido à sua transmissibilidade aperfeiçoada e maior virulência.

Havia mais de 400.000 (Figura: 12) casos diários no início de maio, e o número de novas infecções diárias caiu recentemente para menos de 100.000, à medida que uma segunda onda mortal da pandemia devasta o país. A Índia registrou 67.208 novos casos em apenas um dia, elevando seu total para 29,7 milhões, com 381.903 mortes. A capital, Nova Délhi, foi uma das áreas mais atingidas do país durante o surto de abril a maio. Há uma grave escassez de oxigênio, medicamentos e leitos hospitalares. À medida que o número de casos caiu, a cidade começou gradualmente a aliviar as restrições de bloqueio, permitindo a reabertura de



shoppings e mercados e permitindo que metrô e restaurantes operem com 50% da capacidade (Sharma, Kiran 2021).

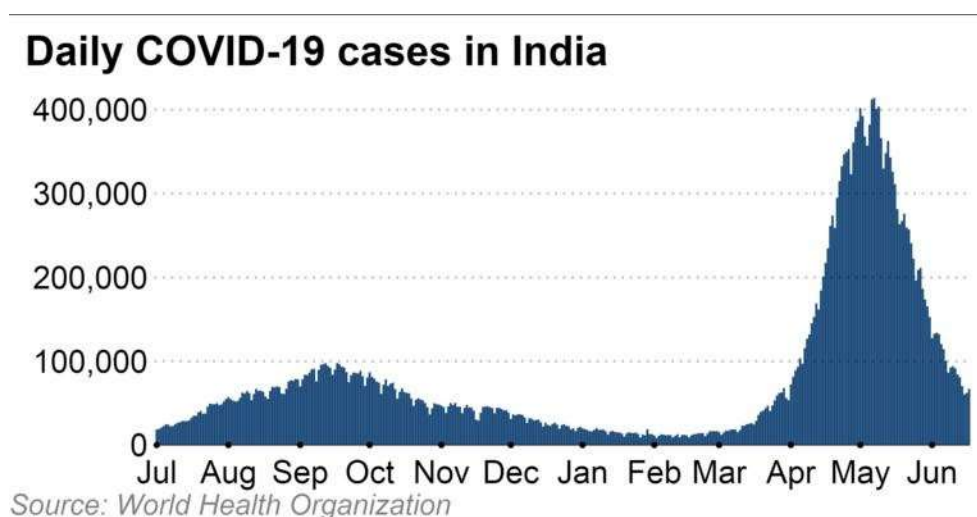


Figura 12: Casos diários de COVID-19 na Índia julho 2020 a junho de 2021. Fonte: Sharma, Kiran 2021.

De acordo com a plataforma GISAID vinculada à Organização Mundial da Saúde, no Brasil, a variante delta domina, respondendo por 90% das amostras sequenciadas globais. Por exemplo, gama (P.1, Amazônia), no Brasil o delta não causou tanto efeito quanto o esperado, isto pode ter ocorrido por duas hipóteses: (1) a vacinação pela coronovac e (2) a variante gamma pode ter ajudado a suavizar o impacto da variante delta, pois a esta variante infectou muitas pessoas, o que resultou em dezenas de mortes, então provavelmente gerou uma imunidade contra a variante delta (Butantan, 2021).

Foi descrito em 84 países, na região do Américas foi relatado nos EUA (52 estados), Canadá, México, Brasil, Argentina, Peru e Chile. De acordo com dados do GISAID, a partir de 4 de julho de 2021, mais de 111 mil amostras foram detectadas sequenciado desta variante em todo o mundo (Mora et al., 2021; Hendaus e Jomha, 2021). A variante B.1.617.2 foi inicialmente identificada na Índia em dezembro de 2020 e, eventualmente, em vários países nos seis continentes. Várias mutações na proteína spike da variante Delta foram identificadas (L452R, t478K, D614G, t119R, Δ157-158, P681R e D950N). De acordo com as evidências disponíveis até o momento esta variante é 40-60% mais transmissível do que a variante Alfa (B.1.1.7). Também pode ser associado com maior risco de hospitalização (Mora et al., 2021). Duas sub-linhagens da variante Delta que se destacam por a mutação K417N na proteína

Spike (“Deltaplus”), que foram nomeados AY.1 (B.1.617.2.1) e AY.2 (B.1.617.2.2), descrito pela primeira vez em abril e março de 2021. Acumulam até 28 de janeiro de 2022 mais de 4 milhões sequências no banco de dados GISAID. Deve ser mencionado que esta mutação K417N é compartilhada com outros sub-linhagens da variante Beta (B.1.351), que mostrou, por um lado, uma menor afinidade entre o RBD com ACE2, bem como uma menor afinidade para anticorpos neutralizantes, evitando assim a resposta imune. Deve-se ressaltar que provavelmente esta menor afinidade para RBD, é compensado pelas mutações do variante delta no RBD que permite uma maior afinidade com o receptor, otimizando assim sua transmissão (Fratev, 2021).

#### 5.6.1.5 Variante Ômicron

A nova variante Ômicron foi descoberta pela primeira vez em Gauteng, África do Sul, em 25 de novembro de 2021, aproximadamente 23 meses após o primeiro caso COVID-19 ter sido relatado, com uma estimativa de 260 milhões de casos e 5,2 milhões de mortes em todo o mundo. A infraestrutura avançada de sequenciamento do genoma da África do Sul facilita a detecção precoce e o relato de novas variantes para o mundo. Em 15 de dezembro de 2021, variantes ômicron apareceu em cerca de 77 países / regiões, a maioria no Reino Unido, África do Sul e Estados Unidos. Casos positivos de ômicron também foram observados na Índia. O Reino Unido relatou a primeira morte de uma nova variante em 13 de dezembro de 2021 (Thakur e Ratho, 2021; Karim e Karim, 2021).

Como discutido no tópico 4.5.1, os vírus de RNA sofrem mutação e evoluem rapidamente para se adaptar e sobreviver em um ambiente em constante mudança. As principais preocupações em relação à ômicron incluem se ela é mais contagiosa ou se resulta em quadros clínicos mais sérios do que outras VOCs e se pode contornar a proteção conferida pelas vacinas em uso. Embora não haja dados imunológicos e clínicos para fornecer evidências claras, podemos extrapolar as informações conhecidas sobre as mutações da ômicron para fornecer sinais preliminares de transmissão, gravidade e escape imunológico. (Karim e Karim, 2021). A característica mais perturbadora da variante ômicron é que ela contém mais de 50 mutações, das quais cerca de 30 estão localizadas na proteína S, a mais preocupantes são os 15 locais de mutação no RBD, que interagem com as células humanas antes de entrar na célula e podem aumentar a capacidade de propagação (Takhur e Ratho, 2021). Outras mutações com efeitos conhecidos conferem maior capacidade de transmissão e afetam a afinidade de ligação. É importante ressaltar que o impacto da maioria das mutações restantes não está claro, levando a uma grande incerteza sobre como a combinação completa

de deleções e mutações afetará o comportamento do vírus e a suscetibilidade à imunidade natural e mediada por vacina (Karim e Karim, 202; Harvey et al., 2021).

O primeiro caso sequenciado de ômicron foi relatado em Botswana em 11 de novembro de 2021, e outro caso sequenciado de um viajante da África do Sul foi relatado em Hong Kong alguns dias depois (Karim e Karim, 2021; Kandeel et al., 2021). Devido à deleção 69-70del, semelhante à variante alfa, a variante está relacionada à falha em direcionar o gene S em um teste de PCR específico. O primeiro caso conhecido de ômicron na África do Sul foi um paciente que foi diagnosticado com COVID-19 em 9 de novembro de 2021, embora seja possível que haja casos desconhecidos em muitos países ao redor do mundo antes disso. Na África do Sul, uma média de 280 casos de COVID-19 por dia na semana anterior à detecção do ômicron aumentou para 800 por dia na semana seguinte, em parte devido ao aumento da vigilância. Os casos de COVID-19 em Gauteng, África do Sul, estão aumentando rapidamente; o tempo de duplicação inicial da quarta onda é mais longo do que as três primeiras ondas no país (Volz et al., 2021; Karim e Karim, 2021).

Desde a descoberta dessa variante na África do Sul, os cientistas vêm tentando encontrar evidências de sua origem e possível trajetória da pandemia. Com base na análise da sequência do ômicron e de outras variantes do SARS-CoV-2, os pesquisadores especulam que a ômicron parece ter evoluído em paralelo e provavelmente divergiu de outras cepas muito cedo, possivelmente em meados de 2020 (Takur e Ratho, 2021). A análise do RBD mostra que existem duas sub-ramificações desta variante. Além disso, a análise filogenética de 3590 sequências SARS-CoV-2 mostrou que a ômicron evoluiu da linhagem B.1.1.519 (clado 20B) (Wang e Cheng, 2021). Pacientes com COVID-19 cronicamente infectados podem ter a possibilidade de adaptação, que está relacionada à maioria das mutações na variante ômicron observadas em pessoas infectadas pelo HIV imunocomprometidas. O fato de a África do Sul ter uma alta taxa de prevalência de HIV (19%) pode ser um fator contribuinte para a emergência da ômicron (Msomi et al., 2021; Healy, 2021).

Outras possibilidades podem ser a evolução de espécies não humanas ou o ciclo e evolução de populações remotas sob enorme pressão evolutiva. A baixa cobertura vacinal ou vacinação desigual em países desenvolvidos e em desenvolvimento pode fornecer um ambiente fértil para a evolução da mutação. No entanto, devido à falta de evidências experimentais fortes, a origem desta variante ainda não está clara (Takur e Ratho, 2021).

### 5.6.2 Variantes de interesse

De acordo com a OPAS/OMS uma variante é considerada como uma variante de interesse (VOI) se, quando em comparação com a variante original, seu genoma contiver mutações que mudem o fenótipo do vírus e se: (1) Foi identificada como causadora de transmissão comunitária, de múltiplos casos ou de clusters (agrupamentos de casos) de COVID-19 ou tiver sido detectada em vários países; (2) ser de outra forma qualificada como uma VOI pela OMS em consulta com o Grupo de Trabalho de Evolução do SARS-CoV-2 (OPAS/OMS). As VOIs podem ser definidas também como variantes com marcadores genéticos específicos que foram associados a mudanças que podem causar maior transmissibilidade ou virulência, redução na neutralização por anticorpos obtidos por infecção natural ou vacinação, a capacidade de evitar a detecção ou uma diminuição na eficácia da terapêutica ou vacinação. A atualização epidemiológica semanal da OMS em 22 de junho de 2021, descreveu oito (VOIs), a saber, Epsilon (B.1.427 e B.1.429); Zeta (P.2); Eta (B.1.525); Teta (P.3); Iota (B.1.526); Kappa (B.1.617.1) e Lambda (C.37) e Mu (B.1.621) (Casella et al., 2021).

Em meados de outubro de 2021, a OMS diminuiu consideravelmente a quantidade de cepas enquadradas como VOI, mantendo na categoria apenas a lambda e a mu, que têm grande circulação na América Latina (Tabela 2) (Who, 2020).

Tabela 3: Variantes de interesse

WHO label <sup>§</sup>	Pango lineage*	GISAID clade	Nextstrain clade	Earliest documented samples	Date of designation
Lambda	C.37	GR/452Q.V1	21G	Peru, Dec-2020	14-Jun-2021
Mu	B.1.621	GH	21H	Colombia, Jan-2021	30-Aug-2021

Fonte: OPAS/OMS

Em dezembro de 2021, apenas duas variantes eram consideradas como VOI pela OMS. A variante lambda (C.37) foi detectada pela primeira vez no Peru e foi designada como VOI pela OMS em junho de 2021 devido a uma maior presença desta variante na região sul-americana (Casella et al., 2021). A outra variante foi designada “Mu” em janeiro de 2021. A linhagem foi documentada pela primeira vez na Colômbia e foi nomeada como linhagem B.1.621 (Xie et al., 2021). O seu genoma possui um total de 21 mutações, incluindo 9 mutações de aminoácidos, todas na proteína de espícula do vírus: T95I, Y144S, Y145N,

R346K, E484K ou a mutação de escape, N501Y, D614G, P681H e D950N. Ela tem uma inserção de um aminoácido na posição 144/145 da proteína Spike, dando uma mutação total YY144-145TSN. Ela também apresenta uma deleção de deslocamento de quadro de quatro nucleotídeos em ORF3a que gera um códon de parada de dois aminoácidos. A mutação é rotulada como V256I, N257Q e P258 (Messali et al, 2021).

Em 31 de agosto de 2021, a OMS divulgou uma atualização que afirmava que "a variante Mu tem uma constelação de mutações que indicam propriedades potenciais de escape imunológico", observando que estudos preliminares mostraram alguns sinais disso, mas que isso precisa ser confirmado por mais estudos. (WHO,2021).

### **5.7 Vigilância Genômica**

Todos os dias, inúmeras variantes do SARS-CoV-2 aparecem no mundo, destacando o desafio de fortalecer as capacidades de detecção oportuna ao expandir e fortalecer a vigilância epidemiológica, a vigilância laboratorial e a comunicação rápida, e o desenvolvimento da pesquisa em saúde. As medidas de prevenção e controle para a pandemia da COVID-19 podem ser apoiadas. Embora o impacto total das novas variantes de COVID-19 no controle da doença não seja claro, algumas mutações ou combinações podem fornecer ao vírus vantagens seletivas, que podem ajudar a aumentar a capacidade de transmitir ou evitar a resposta imune do hospedeiro (Sallas et al., 2021). Desde a caracterização inicial do genoma do SARS-CoV-2, o vírus foi dividido em diferentes grupos filogenéticos. O surgimento de mutações é um evento natural e esperado na evolução dos vírus. Algumas mutações específicas definem genomas virais ou cepas que estão circulando globalmente. Devido a vários processos microevolutivos e pressões seletivas, algumas mutações adicionais podem aparecer, criando diferenças (chamadas variantes) dentro de cada genoma. No entanto, algumas mutações podem ser benéficas para a disseminação do vírus e alterar as manifestações clínicas ou malélicas afetando a eficácia de vacinas, medicamentos antivirais ou ferramentas de diagnóstico. Desde o final de 2020, houve algumas variações que podem representar maiores riscos para a saúde pública global. Atualmente, a Organização Mundial da Saúde reconhece cinco VOCs: Alpha, Beta, Gamma, Delta e Ômicron. Devido ao impacto potencial na vigilância em saúde pública, quando um VOC ou VOI é detectado pela primeira vez em um país ou região, ele precisa ser notificado à OPAS / OMS de acordo com o Regulamento Sanitário Internacional (RSI). No entanto, a detecção inicial de VOC ou VOI pode ser rastreada por sequenciamento ou RT-qPCR e é baseada em análises laboratoriais relativamente complexas (Organização Pan-Americana da Saúde / OMS).

O diagnóstico laboratorial exerce um papel importantíssimo tanto para o prognóstico e acompanhamento, bem como para estudos da epidemiologia molecular do SARS-CoV-2. (Menezes et al., 2020).

### 5.7.1 RT-qPCR

O padrão ouro para identificação do agente patogênico da COVID-19, por se tratar de um vírus, é o isolamento viral em cultura em tecido. Porém, o isolamento viral não é prática e leva pelo menos três dias para apresentar os efeitos citopáticos em linhagens celulares, como das células Vero-E6.

Ainda, esse método requer estrutura laboratorial com nível de biossegurança 3, que usualmente não está disponível nas instituições de saúde. Além disso, os relatos da China corroboram instruções do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e da OMS quanto à utilização da transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR) para o diagnóstico laboratorial do SARS-CoV-2 (Menezes et al., 2020; Chan JF et al., 2020).

Ao contrário da sorologia, a RT-qPCR fornece importantes informações nos estágios iniciais da infecção, pois pesquisa o patógeno diretamente por meio da detecção de seu ácido nucleico quando o objetivo é prevenir a transmissibilidade e os anticorpos ainda não foram produzidos. Permite, então, a detecção precoce e a diferenciação de outras viroses respiratórias, apresentando alta sensibilidade e especificidade (Tahamtan e Ardebilli, 2020; Younes et al., 2020)

O diagnóstico do SARS-CoV-2 pode ser realizado em uma diversidade de amostras clínicas, incluindo lavado broncoalveolar, biópsia pulmonar, escarro, esfregaço (*swab*) nasofaríngeo, esfregaço orofaríngeo, fezes, urina, sangue e até saliva. (Bwire et al., 2020; Li e Ren, 2020) Os estudos têm mostrado que o lavado broncoalveolar é a melhor amostra, no entanto, a coleta não é prática. (Bwire et al., 2020; Liu, et al., 2020) O escarro também é uma ótima amostra para o diagnóstico laboratorial da COVID-19, seguida dos *swabs* nasofaríngeo e orofaríngeo (Tahamtan e Ardebilli, 2020; Yang, Yang et al.; 2020). Por fim, a amostra que tem tido mais praticidade e precisão é a de *swab* da nasofaringe (Younes et al., 2020; Xiao et al., 2020; Bwire et al., 2020). Entretanto, vale destacar o risco de transmissão do SARS-CoV-2 aos profissionais de saúde durante a coleta de amostras do trato respiratório, mais especificamente do inferior (Li e Ren 2020).

Um resultado positivo para SARS-CoV-2 apresenta elevado valor preditivo positivo e confirma o diagnóstico de COVID-19, mesmo o paciente não apresentando sintomas (Mitchell et al., 2020). Portanto, um único resultado não detectado na RT-qPCR para SARS-CoV-2 em paciente sintomático não exclui o diagnóstico da COVID-19, possui baixo valor preditivo negativo e a retestagem pode ser apreciada (Tahamtan e Ardebili, 2020; Younes et al., 2020). Dois resultados negativos em 24 horas indicam a cura da COVID-19, no entanto, esse protocolo não é recomendado, pois não altera a conduta clínica caso ainda haja sinais e sintomas. A RT-qPCR pode ser operada em larga escala e os resultados estão geralmente disponíveis dentro de algumas horas a dois dias (Younes et al., 2020; Byrne et al., 2020). No entanto, a falta de reagentes no mercado e a alta demanda de amostras têm causado sobrecarga aos laboratórios e atraso na liberação de resultados. As técnicas moleculares exigem pessoal com conhecimento e treinamento técnico especializado para operar sofisticados instrumentos são de alto custo, e o laboratório deve atender aos requisitos de biossegurança classe de risco 3 (Li e Ren 2020; Oliveira et al., 2020).

A alta taxa de transmissão durante a pandemia de COVID-19 promoveu o surgimento de variantes do SARS-CoV-2. A potencial diversidade genômica que define essas variantes indica seleção natural para mutações com significado fenotípico (Korber et al., 2021). Em particular, as variantes relacionadas com a propagação, aumento da virulência ou resistência do hospedeiro, vacina ou imunidade antiviral têm grande significado para a saúde pública (Shen et al., 2021). Outras mutações também podem afetar a sensibilidade diagnóstica. Portanto, a vigilância genômica que representa a população recém-infectada é uma ferramenta importante para responder à pandemia (Wang, et al., 2021).

Com base na evidência de transmissão aumentada, gravidade da doença e eficácia reduzida do tratamento, o CDC e o Centro Europeu para Prevenção e Controle de doenças (ECDC) definiram três níveis de ameaça diferentes associados a mutações, incluindo VOI e VOC (Neopane et al. 2021; Wang et al., 2021). Atualmente, as linhagens de SARS-CoV-2 foram confirmadas pelo sequenciamento do genoma completo de amostras positivas para SARS-CoV-2, que detecta novas mutações e quaisquer novas alterações no genoma viral. Este sequenciamento também é considerado o método padrão ouro para identificar novas variantes de disseminação do SARS-CoV-2 em escala global. No entanto, a disponibilidade limitada torna a detecção oportuna de variantes de respostas de saúde pública impraticável, como rastreamento de contato e determinação da prevalência de variantes preocupantes na comunidade (Neopane et al., 2021). A implementação de sequenciamento do genoma em

laboratórios de diagnóstico também é difícil, destacando a importância de estratégias complementares de vigilância. Portanto, para detecção precoce e rastreamento da disseminação de cepas específicas, são necessários métodos alternativos de triagem em poucas horas. Além disso, métodos rápidos e eficientes de rastreamento da disseminação de certas cepas podem ser mais valiosos nos casos em que as mutações estão associadas ao aumento da disseminação, gravidade da doença ou falha da vacina (Neopane et al., 2021).

Com o advento do COVID 19, a maioria dos laboratórios que oferece testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) tem o equipamento necessário e pessoal treinado para realizar a extração de ácidos nucleicos e PCR em tempo real (Lind et al., 2021). Portanto, um simples ensaio de genotipagem usando o sistema de detecção TaqMan pode ser usado para rastrear rapidamente variantes e ajudar a monitorar e controlar a infecção por SARS-CoV-2. O sistema pode monitorar uma ou mais mutações SARS-CoV-2 por meio de um processo que combina a tecnologia de genotipagem TaqMan SNP com uma reação de PCR em tempo real de uma etapa para detectar rápida e eficientemente mutações no material genético em uma amostra (Lind et al., 2021). A maioria dos laboratórios que fornecem teste de amplificação de ácido nucléico possui o equipamento necessário e pessoal bem treinado para realizar a extração de ácido nucléico e PCR em tempo real. Portanto, o teste de genotipagem simples usando o painel de sondas TaqMan pode ser usado para rastrear mutações rapidamente e ajudar a monitorar e a circulação de diferentes variantes ou linhagens de SARS-CoV-2 (Lind et al., 2021; Neopane et al., 2021).

### 5.7.2 Sequenciamento genético

Desde o começo da pandemia de COVID-19, o sequenciamento do genoma completo do SARS-CoV-2 tem sido realizado a uma taxa sem precedentes em todo o mundo com o uso de métodos muito diversos de sequenciamento de próxima geração (NGS) (Charre et al., 2020).

A área da microbiologia clínica inclui tanto a microbiologia diagnóstica, a identificação de patógenos a partir de amostras clínicas para orientar o manejo e as estratégias de tratamento de pacientes com infecção, quanto a microbiologia de saúde pública, a vigilância e monitoramento de surtos de doenças infecciosas na comunidade. As técnicas clássicas de diagnóstico no laboratório de microbiologia incluem crescimento e isolamento de microrganismos em cultura, detecção de anticorpos específicos do patógeno (sorologia) ou antígenos e identificação molecular de ácidos nucléicos microbianos (DNA ou RNA), mais comumente via PCR (Chiu e Miller, 2019). Enquanto a maioria dos ensaios moleculares visa



apenas um número limitado de patógenos usando iniciadores ou sondas específicas, as abordagens metagenômicas caracterizam todo o DNA ou RNA contida em uma amostra, permitindo a análise de todo o microbioma bem como o genoma do hospedeiro humano ou transcriptoma em amostras de pacientes. Abordagens metagenômicas têm sido empregadas há décadas para caracterizar vários nichos, variando de ambientes marinhos a solos tóxicos a vetores de doenças artrópodes ao microbioma humano. Essas ferramentas também têm sido usadas para identificar infecções em vestígios antigos, descobrir novos patógenos virais e caracterizar o viroma humano em estados de saúde e doença e para aplicações forenses (Chiu e Miller, 2019; Pallen, 2014).

A capacidade de detectar todos os patógenos potenciais - bactérias, vírus, fungos e parasitas - em uma amostra e simultaneamente interrogar as respostas do hospedeiro tem grande utilidade potencial no diagnóstico de doenças infecciosas. No entanto, foi o advento das tecnologias de NGS em 2005 que deu início ao campo da metagenômica. Pela primeira vez, milhões a bilhões de sequências poderiam ser geradas em uma única execução, permitindo a análise de todo o conteúdo genético de uma amostra clínica ou ambiental. O aumento de instrumentos de sequenciamento disponíveis e diminuições exponenciais nos custos de sequenciamento durante a década seguinte levou à rápida adoção da tecnologia NGS (Voelkerding et al., 2009).

As tecnologias de sequenciamento NGS tornaram-se rapidamente o método de escolha para diversas aplicações em virologia, incluindo a identificação de novos vírus. A reconstrução de sequências genômicas virais completas ou parcialmente completas e a análise da evolução viral (Chiara et al., 2020; Kohl et al., 2015). Uma das vantagens mais relevantes das abordagens baseadas em NGS é que os genomas virais podem ser reconstruídos mesmo para vírus desconhecidos ou mal caracterizados, a partir de preparações virais enriquecidas em cultura ou diretamente de amostras clínicas. No caso do SARS-CoV-2, as tecnologias de segunda e terceira geração de NGS foram aplicadas com sucesso, e vários protocolos de preparação de biblioteca genômica específicos foram desenvolvidos de forma independente por diferentes fabricantes. Até o momento, quatro abordagens conceitualmente diferentes foram aplicadas: (1) metatranscriptômica shotgun, (2) captura-enriquecimento híbrido, (3) sequenciamento de amplicon e (4) sequenciamento direto de RNA. (Pillay et al., 2020; Chiara et al., 2020).

O sequenciamento metagenômico Shotgun é uma técnica independente de cultura que pode vasculhar todo o DNA de uma amostra, permitindo a diferenciação de comunidades

complexas de microrganismos, sem qualquer conhecimento anterior de suas sequências genômicas (Chiara et al., 2020). O sequenciamento metagenômico é uma ferramenta muito poderosa para a identificação de patógenos previamente não caracterizados. Ao oferecer informações detalhadas e quantitativas sobre a composição das comunidades microbianas, essa abordagem também fornece valor agregado em microbiologia clínica, onde pode ser usada para informar estratégias terapêuticas (Chiara et al., 2020).

A metatranscriptômica Shotgun - sequenciamento de RNA de saturação - foi aplicada com sucesso para obter conjuntos completos ou quase completos do genoma do SARS-CoV-2 a partir de vários tipos de amostras clínicas. Visto que a metagenômica / metatranscriptômica também pode identificar outros DNA / RNAs virais e bacterianos, esses métodos também nos fornecem informações sobre infecções secundárias, potencialmente informando as decisões de tratamento e prevendo os resultados do paciente. Enquanto a maioria dos estudos empregou a plataforma Illumina, a Oxford Nanopore Technology (ONT) também foi explorada para metatranscriptômica shotgun, por meio da modificação de um protocolo projetado para vírus influenza de amostras clínicas (Lewandowski et al., 2019). A abordagem metatranscriptômica shotgun foi empregada na descoberta de SARS-CoV-2 e é, em muitos sentidos, o método de escolha para sequenciar cepas emergentes de SARS-CoV-2 pois não requer conhecimento prévio da sequência viral e evita efeitos potenciais de regiões diferentes nas abordagens de captura e amplicon (Butler et al, 2020).

O sequenciamento de amplicons permite que os pesquisadores limitem o alvo de suas análises apenas a um número / tipo limitado de sequências de escolha. Esta abordagem é muito específica, mas requer um conhecimento prévio significativo da sequência que deve ser 'direcionada'. Abordagens fundamentadas em amplicon para o sequenciamento de SARS-CoV-2 adotam um fluxo de trabalho de enriquecimento que consiste na síntese da primeira fita de cDNA seguida pela amplificação do genoma com PCRs multiplex. O objetivo é produzir pools de amplicons que cobrem todo o comprimento ou as porções discretas do genoma viral. Vários projetos de PCR multiplex diferentes, diferindo no número e tamanho dos amplicons, foram propostos para o SARS-CoV-2 (Chiara et al., 2020). Diversos kits comerciais e protocolos não comerciais estão disponíveis para a preparação do amplicon SARS-CoV-2, alguns dos quais são personalizados para plataformas NGS específicas. Como a profundidade de sequenciamento é uma consideração marginal, as bibliotecas podem ser sequenciadas em plataformas de bancada com um rendimento médio (ou seja, Illumina NextSeq e Miseq; plataformas de torrent Ion, etc.). Além disso, quando acordado com os

tempos de resposta curtos de tecnologias de Sequenciamento de Molécula Única (SMS), como ONT e PacBio, o sequenciamento de amplicon de SARS-CoV-2 pode ser usado para vigilância rápida de cadeias de transmissão, conforme exemplificado pela abordagem adotada pela rede ARTIC para monitoramento em tempo real do surto COVID-19 no Reino Unido , onde um protocolo baseado em amplicon foi empregado com êxito a surtos virais anteriores foi adaptado para SARS-CoV-2 (Chiara et al., 2020).

Sequenciamento de enriquecimento de captura híbrida é similar ao sequenciamento baseado em amplicon. A captura híbrida é uma estratégia de sequenciamento que permite aos pesquisadores planejar apenas sequências predefinidas ou regiões de um genoma que são importantes para seus interesses específicos. Estratégias de enriquecimento de alvo usando captura híbrida foram originalmente desenvolvidas para estudos genômicos humanos, para permitir o sequenciamento rápido e econômico dos exons de genes codificadores de proteínas (sequenciamento de exoma) (Albert, 2017). O sequenciamento do exoma ainda é apontado como o método de escolha para o estudo da variação genética em loci codificadores de proteínas em humanos, uma vez que alcança um bom equilíbrio entre a especificidade do enriquecimento baseado em amplicon e a sensibilidade (para diferentes tipos de genética variantes) de sequenciamento de shotgun a custos significativamente mais baixos (Warr, et al. 2015).

Por fim tem-se o sequenciamento direto de RNA viral. Todas as estratégias já relatadas requerem retrotranscrição de RNA e um maior ou menor grau de manipulação de ácidos nucleicos antes da construção da biblioteca e podem resultar na perda de informações, incluindo modificações pós-transcricionais e representação precisa da estequiometria dos transcritos. SMS é um desenvolvimento relativamente recente em tecnologias de sequenciamento, permitindo a determinação direta da sequência de moléculas de ácido nucleico simples, sem amplificação (por exemplo, o sequenciamento direto de RNA por ONT). As tecnologias de SMS geralmente fornecem leituras mais longas do que os métodos NGS 'clássicos', mas com taxas de erro supostamente mais altas. Um protocolo de sequenciamento de RNA direto configurado pelo ONT permite potencialmente a detecção de modificações pós-transcricionais. Além disso, em virtude das leituras longas, essas tecnologias são capazes de fornecer reconstruções muito precisas de transcrições únicas maduras e precursoras e de padrões de transcrição complexos, como aqueles que ocorrem durante a infecção por coronavírus (recombinação, maturação alternativa do transcrito, isoformas transcricionais raras, etc.). (Chiara et al., 2020).

Em junho de 2020, o Food and Drug Administration (FDA) concedeu autorização de uso emergencial para o teste de NGS, COVID-19 da Illumina, a primeira autorização para diagnósticos NG a ser usada no enfrentamento da pandemia. O teste COVIDSeq pode ser estendido para triagem de grande volume e espera-se que a demanda aumente conforme os países e cidades reabrem. É uma versão modificada do teste desenvolvido pela rede ARTIC, que é um projeto cooperativo Wellcome Trust que visa simplificar a vigilância durante a epidemia. Ele usa 98 fragmentos de DNA ou amplicons para cobrir aproximadamente 30 quilobases no genoma SARS-CoV-2. Com várias reações, mais de 3.000 testes de amostra nasofaríngea ou orofaríngea podem ser executados simultaneamente em um tempo de resposta de 24 horas. A literatura da empresa afirma que o teste requer pelo menos 1.000 cópias do genoma viral por mililitro e exibe uma sensibilidade de 98% e uma especificidade de 97% (Coronaviridae Study Group, 2020).

Nas últimas décadas, uma importante atenção política tem se concentrado na necessidade de identificar e limitar novos surtos que podem levar a pandemias e de expandir e sustentar os investimentos para construir a preparação e a capacidade de saúde (GHASA, 2015). Nesse contexto, o método ultrarrápido e econômico de reconstruir a sequência do genoma de patógenos emergentes representa uma ferramenta importante para monitorar e combater a propagação de novas doenças infecciosas humanas, como os recentes SARS, MERS, Zika vírus e Ebola vírus (Quick et al., 2016; Wit et al., 2016). O método NGS se adaptou rapidamente ao paradigma SARS-CoV-2 e provou ser aplicável a vários problemas biológicos relacionados (Meredith et al., 2016; Zhang et al., 2021). A velocidade de geração e análise de dados é sem precedentes, inimaginável alguns anos atrás. A integração das informações das variantes do genoma do vírus e do hospedeiro, de preferência com outros parâmetros clínicos, demográficos e sociais, pode fornecer informações mecânicas e agregar valor preditivo para os resultados clínicos (Chiara et al., 2020).

## 5 CONCLUSÃO

Cerca de 75% das doenças infecciosas emergentes que afetam humanos são de origem animal e cerca de 60% dos patógenos humanos são zoonóticos. Uma doença zoonótica é um termo que se refere a uma infecção que é transmitida aos seres humanos através de animais. Embora permaneçam espaços em que condiz à origem evolutiva do SARS-CoV-2, estudos evolutivos e moleculares demonstraram origem viral e transmissão de animais hospedeiros. A flexibilidade genética do genoma do SARS-CoV-2 permite a adaptação a diferentes hospedeiros e rápida disseminação global. O acúmulo de mutações no genoma acaba levando ao desenvolvimento de estratégias de evasão da resposta imune do hospedeiro (Borges et al., 2020).

De acordo com a pesquisa bibliográfica, o curso da COVID-19 varia muito entre os pacientes e também é inconsistente entre os diferentes pacientes. É importante observar que a detecção precoce que deve ser realizada ao diagnosticar pacientes durante uma pandemia é um passo extremamente importante (Sharna,2021).

Com o conhecimento adquirido, até o momento, sabe-se que mulheres tendem a se infectar menos que os homens, pode-se afirmar que os cenários futuros dependem de como se comportará a transmissibilidade, da vulnerabilidade ao vírus, da efetividade das medidas de controle e da disponibilidade da vacina. As preocupações sobre a menor eficácia da vacina devido a novas variantes mudaram nossa percepção sobre o controle da COVID-19, desapontando o mundo da noção de que a vacinação global é séria, por si só, suficiente para controlar a infecção por SARS-CoV-2.

De fato, as VoCs destacaram a importância da vacinação em combinação com as medidas de prevenção de saúde pública existentes, como máscaras e distanciamento social como um caminho para a endemicidade viral.

A COVID-19 é um problema global; portanto, as desigualdades no acesso às vacinas entre países desenvolvidos e países com carências socioeconômicas podem levar ao ressurgimento de novas variantes. Esforços individuais, como usar máscaras bem ajustadas, manter o distanciamento social adequado no meio da multidão, higienizar as mãos e vacinar,

continuarão sendo o principal objetivo para limitar a disseminação de variantes dentro da comunidade.

A partir das evidências que podem ser vistas de que o SARS-CoV-2 continua a evoluir, acredito que deve haver monitoramento contínuo de mutações para esclarecer não apenas como o vírus adoece as pessoas, mas também como os humanos respondem à infecção. A variabilidade é importante para O campo da pesquisa de vacinas também é importante, especialmente no que diz respeito à modificação da glicoproteína-S, ajudando assim os países a se prepararem melhor para diagnósticos mais precisos e vacinas eficazes.

## 6 PERSPECTIVAS

Desde dezembro de 2019, o mundo lida com diferentes variantes do SARS-CoV-2 e experimentou as primeiras ondas da pandemia de COVID-19. No entanto, alguns países ainda estão enfrentando a terceira onda devido à variante Delta. No processo, o surgimento de novas variantes como a ômicron pode impactar negativamente a vida humana e os meios de subsistência. Cientistas, especialistas médicos, trabalhadores da linha de frente e formuladores de políticas públicas devem ser elogiados por seus esforços incansáveis para enfrentar essa pandemia. Nos últimos dois anos, uma melhor compreensão do SARS-CoV-2 e suas variantes, sua origem e estrutura, patogênese, sintomas associados em diferentes categorias de pacientes foi muito benéfico. Vacinas eficazes aprovadas pelas agências reguladoras, opções de tratamento e gerenciamento, melhor infraestrutura diagnóstica e terapêutica e profissionais de saúde treinados podem facilitar o melhor manuseio das novas variantes.

## REFERÊNCIAS

- A.A.T. Naqvi, K. Fatima, T. Mohammad, et al., Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural Genomics approach, **BBA - Molecular Basis of Disease** (2020).
- ABE, Rosa Shizue, Costa, Priscila Carozza Frasson, Lucas, Lucken Bueno Lucas. Aprendendo Sobre Vírus a Partir de uma Proposta de Atividades Baseada nos Três Momentos Pedagógicos e no Enfoque CTSA **Rev. Ens. Educ. Cienc. Human.**, v.20, n.3, p.260-266, 2019.
- AHN, DG, Shin HJ, Kim MH, Lee S, Kim HS, Myoung J, Kim BT, Kim SJ. Current Status of Epidemiology, Diagnosis, Therapeutics, and Vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **J. Microbiol. Biotechnol.** 2020; 30:313-324.
- ALBERT, TJ, Molla MN, Muzny DM, Nazareth L, Wheeler D, Song X, Richmond TA, Middle CM, Rodesch MJ, Packard CJ, Weinstock GM, Gibbs RA. Direct selection of human genomic loci by microarray hybridization. **Nat Methods.** 2007 Nov;4(11):903-5. doi: 10.1038/nmeth1111. Epub 2007 Oct 14. PMID: 17934467.
- ALBINI, A., Di Guardo, G., Noonan, D.M. et al. The SARS-CoV-2 receptor, ACE-2, is expressed on many different cell types: implications for ACE-inhibitor- and angiotensin II receptor blocker-based cardiovascular therapies. **Intern Emerg Med** 15, 759–766 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11739-020-02364-6>.
- ALEXANDERSEN, S., Chamings, A. & Bhatta, T.R. SARS-CoV-2 genomic and subgenomic RNAs in diagnostic samples are not an indicator of active replication. **Nat. Commun.** 11, 6059 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19883-7>
- ANASTASOPOULOU, Spyridoula, and Athanasia Mouzaki. "The biology of SARS-CoV-2 and the ensuing COVID-19." **Achaiki Iatriki** 39.1 (2020): 29-35.
- AQUINO, Estela ML et al. Medidas de distanciamento social no controle da pandemia de COVID-19: potenciais impactos e desafios no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, p. 2423-2446, 2020.
- BARBOSA, Carla Meneguim. *Cornavírus em aves silvestres e domésticas provenientes de diferentes regiões do Brasil. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de pesquisa: Vírus emergentes em animais silvestres. São Paulo, 63p 2015.*
- BATAH SS, Fabro AT. Pulmonary pathology of ARDS in COVID-19: A pathological review for clinicians. **Respir Med.** 2021 Jan; 176:106239. Doi: 10.1016/j.rmed.2020.106239. Epub 2020 Nov 19. PMID: 33246294; PMCID: PMC7674971
- BELSHAW, Robert et al. "The evolution of genome compression and genomic novelty in RNA viruses." **Genome research** vol. 17,10 (2007): 1496-504. doi:10.1101/gr.6305707
- BENTLEY and Evans, *Journal of General Virology* 2018;99:1345–1356 DOI 10.1099/jgv.0.001142



BERGMANN CC, Lane TE, Stohlman SA. Coronavirus infection of the central nervous system: host-virus stand-off. **Nat Rev Microbiol.** 2006 Feb;4(2):121-32. doi: 10.1038/nrmicro1343. PMID: 16415928; PMCID: PMC7096820.

BORGES, A. A.; Suzukawa, a. A.; Zanluca, c.; Santos, c. N. D. Dos. Sars-CoV-2: origem, estrutura, morfogênese e transmissão. *In: barral-netto, m.; barreto, m. L.; pinto junior, e. P.; aragão, e. (org.). Construção de conhecimento no curso da pandemia de covid-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais.* Salvador: edufba, 2020. V. 1. Doi: <https://doi.org/10.9771/9786556300443.002>.

BOURGONJE, AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands JL, Navis GJ, Gordijn SJ, Bolling MC, Dijkstra G, Voors AA, Osterhaus AD, van der Voort PH, Mulder DJ, van Goor H. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). **J Pathol.** 2020 Jul;251(3):228-248. doi: 10.1002/path.5471. Epub 2020 Jun 10. PMID: 32418199; PMCID: PMC7276767.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Biblioteca Virtual em Saúde.** Novo Coronavírus (Covid-19): informações básicas. Disponível em: <http://bvms.saude.gov.br/novo-coronavirus-covid-19-informacoes-basicas/>

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Especial COVID-19 -N15.** MS, Recuperado em 12 de maio, 2020, <https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/May/09/2020-05-06-BEE15-Boletim-do-COE.pdf>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Informe Semanal nº 23** de Evidências sobre Variantes de Atenção de SARS-CoV-2 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia - Brasília: Ministério da Saúde, 2021. 76 p: il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Especial.** Doença pelo Coronavírus COVID-19. Semana Epidemiológica 51 (13 a 19/12/2020)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Especial.** Doença pelo Coronavírus COVID-19. Semana Epidemiológica 25 (14 a 26/06/2021).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Especial.** Doença pelo Coronavírus COVID-19. Semana Epidemiológica 51 (19 a 25/12/2021).

BRITO, Lucas Leão Oliveira, Lima, Thays Oliveira, Pinto, Rafaela Rocha. A eficácia das vacinas anticovid-19 disponíveis no Brasil – uma revisão integrativa **Brazilian Journal of Development Vol 7, No 12 (2021).**

BROOKMAN S, Cook J, Zucherman M, Broughton S, Harman K, Gupta A. Effect of the new SARS-CoV-2 variant B.1.1.7 on children and young people. **Lancet Child Adolesc Health.** 2021 Apr;5(4): e9-e10. doi: 10.1016/S2352-4642(21)00030-4. Epub 2021 Feb 10. PMID: 33581054; PMCID: PMC7906637.

BURKI, Talha, Covid-19 in América Latina. **The Lancet Infectious Diseases** Volume 20, ISSUE 5, P547-548, May 01,2020.

BUTLER, D., Mozsary, C., Meydan, C. *et al.* Shotgun transcriptome, spatial omics, and isothermal profiling of SARS-CoV-2 infection reveals unique host responses, viral diversification, and drug interactions. *Nat Commun* 12, 1660 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21361-7>.

BYRNE, AW, et al. **BMJ Open** 2020;10: e039856. doi:10.1136/bmjopen-2020-039856.7

BWIRE, GM, Majigo MV, Njiro BJ, Mawazo A. Detection profile of SARS-CoV-2 using RT-PCR in different types of clinical specimens: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol*. 2021 Feb;93(2):719-725. doi: 10.1002/jmv.26349. Epub 2020 Aug 2. PMID: 32706393; PMCID: PMC7404904.

CARFÌ A, Bernabei R, Landi F, for the Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. *JAMA*. 2020;324(6):603–605. doi:10.1001/jama.2020.12603;

CARDOSO, R. F.; et al. A. V. COVID-19: An epidemiological challenge. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. e32110716313, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i7.16313. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/16313>. Acesso em: 30 jan. 2022.

CASCELLA M, Rajnik M, Aleem A, et al. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) [Updated 2021 Sep 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**; 2021 jan.

CAMPOY, Pedro J. Sola, et al. First importations of SARS-CoV-2 P.1 and P.2 variants from Brazil to Spain and early community transmission, **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, 2021, ISSN 0213-005X, <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2021.05.008>.

CASTRO, Rosana. Vacinas contra a Covid-19: o fim da pandemia? **Physis: Revista de Saúde Coletiva [online]**. v. 31, n. 01 [Acessado 30 Janeiro 2022], e310100. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-73312021310100>>. ISSN 1809-4481. <https://doi.org/10.1590/S0103-73312021310100>.

CAVALCANTE, João Roberto et al. COVID-19 no Brasil: evolução da epidemia até a semana epidemiológica 20 de 2020. **Epidemiologia e Serviços de Saúde [online]**. 2020, v. 29, n. 4 [Acessado 30 Janeiro 2022], e2020376. Disponível em: <<https://doi.org/10.5123/S1679-49742020000400010>>. Epub 10 Ago. 2020. ISSN 2237-9622. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742020000400010>.

CHAND, Meera, Hopkins, Susan, Dabrera, Gavin, Achison, Christina; Imperial College London: Barclay, Wendy, Ferguson, Neil, Volz, Erik; University of Birmingham: Loman, Nick; University of Edinburgh: Rambaut, Andrew; Wellcome Sanger Institute: Barrett, Jeff. **Investigation of novel SARS-COV-2 variant** Variant of Concern 202012/01 Public Health England

CHAN JF-W, Yip CC-Y, To KK-W, Tang TH-C, Wong SC-Y, Leung K-H, Fung AY-F, Ng AC-K, Zou Z, Tsoi H-W, Choi GK-Y, Tam AR, Cheng VC-C, Chan K-H, Tsang OT-Y, Yuen K-Y. 2020. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/HeI real-time reverse transcription-PCR assay validated *in vitro* and with clinical specimens. *J Clin Microbiol* 58: e00310-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00310-20>.

CHARRE C, Ginevra C, Sabatier M, Regue H, Destras G, Brun S, Burfin G, Scholtes C, Morfin F, Valette M, Lina B, Bal A, Josset L. Evaluation of NGS-based approaches for SARS-CoV-2 whole genome characterisation. **Virus Evol.** 2020 Oct 5;6(2): veaa075. doi: 10.1093/ve/veaa075. PMID: 33318859; PMCID: PMC7665770.

CHIARA M, D'Erchia AM, Gissi C, Manzari C, Parisi A, Resta N, Zambelli F, Picardi E, Pavesi G, Horner DS, Pesole G. Next generation sequencing of SARS-CoV-2 genomes: challenges, applications and opportunities. **Brief Bioinform.** 2021 Mar 22;22(2):616-630. doi: 10.1093/bib/bbaa297. PMID: 33279989; PMCID: PMC7799330.

CHIRANJIB, Chakraborty, Manojit Bhattacharya, Ashish Ranjan Sharma, Sang-Soo Lee, Govindasamy Agoramoorthy, SARS-CoV-2 Brazil variants in Latin America: More serious research urgently needed on public health and vaccine protection, **Annals of Medicine and Surgery**, Volume 66, 2021, 102428, ISSN 2049-0801, <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.102428>.

CHIU CY, Miller SA. Clinical metagenomics. **Nat Rev Genet.** 2019 Jun;20(6):341-355. doi: 10.1038/s41576-019-0113-7. PMID: 30918369; PMCID: PMC6858796.

CHOI, B, Choudhary MC, Regan J. et al. Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host. **N Engl J Med.** 2020 Dec 3;383(23):2291-2293. doi: 10.1056/NEJMc2031364. Epub 2020 Nov 11. PMID: 33176080; PMCID: PMC7673303.

CIOTTI M, Ciccozzi M, Terrinoni A, Jiang WC, Wang CB, Bernardini S. The COVID-19 pandemic. **Crit Rev Clin Lab Sci.** 2020 Sep;57(6):365-388. doi: 10.1080/10408363.2020.1783198. Epub 2020 Jul 9. PMID: 32645276.

CONTI P, Younes A. Coronavirus COV-19/SARS-CoV-2 affects women less than men: clinical response to viral infection. **J Biol Regul Homeost Agents.** 2020 March-April;34(2):339-343. doi: 10.23812/Editorial-Conti-3. PMID: 32253888.

CORONAVAC pode ter ajudado a combater a variante delta no Brasil, diz pesquisadora do Butantan. Instituto Butantan, São Paulo, 21 de outubro de 2021. Disponível em: <<https://butantan.gov.br/noticias/coronavac-pode-ter-ajudado-a-combater-a-variante-delta-no-brasil-diz-pesquisadora>>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2022.

CORONAVIRIDAE STUDY GROUP OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nat Microbiol.** 2020;5(4):536-544. doi:10.1038/s41564-020-0695-z

COSTA, Cláudia Silva, et al. Impactos da influenza na população brasileira: Infecções respiratórias e letalidade. **Brazilian Journal of Animal and Environ. Research Braz. J. Anim. Environ. Res.**, Curitiba, v. 3, n. 4, p. 4376-4393, out. /dez. 2020.

DAS A, Ahmed R, Akhtar S, Begum K, Banu S. An overview of basic molecular biology of SARS-CoV-2 and current COVID-19 prevention strategies. **Gene Rep.** 2021 Jun; 23:101122. doi: 10.1016/j.genrep.2021.101122. Epub 2021 Apr 1. PMID: 33821222; PMCID: PMC8012276.

DE WITE, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. **Nat Rev Microbiol.** 2016 Aug;14(8):523-34. doi: 10.1038/nrmicro.2016.81. Epub 2016 Jun 27. PMID: 27344959; PMCID: PMC7097822.

DUARTE, Phelipe. (2020). COVID-19: Origem do novo coronavirus. **Brazilian Journal of Health Review**. 3. 3585-3590. 10.34119/bjhrv3n2-187.

DUFFY, S., Shackelton, L. & Holmes, E. Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. *Nat Rev Genet* 9, 267–276 (2008). <https://doi.org/10.1038/nrg2323>

DYER O. Covid-19: South Africa's surge in cases deepens alarm over omicron variant **BMJ** 2021; 375: n3013 doi:10.1136/bmj. n3013.

EJAZ, H, Alsrhani A, Zafar A, Javed H, Junaid K, Abdalla AE, Abosalif KOA, Ahmed Z, Younas S. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. **J Infect Public Health**. 2020 Dec;13(12):1833-1839. doi: 10.1016/j.jiph.2020.07.014. Epub 2020 Aug 4. PMID: 32788073; PMCID: PMC7402107.

EPIDEMIOLOGICAL UPDATE: Occurrence of variants of SARS-CoV-2 in the Americas - 20 January 2021. Brasilia, D.F.: **Organização Pan-Americana da Saúde**; 2021.

FARIA, Nuno R et al. “Genomics and epidemiology of a novel SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. ” *medRxiv: the preprint server for health sciences* 2021.02.26.21252554. 3 Mar. 2021, doi:10.1101/2021.02.26.21252554. Preprint.

FORSTER P, Forster L, Renfrew C, Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2020 Apr 28;117(17):9241-9243. doi: 10.1073/pnas.2004999117. Epub 2020 Apr 8. PMID: 32269081; PMCID: PMC7196762.

FRATEV F. N501Y and K417N Mutations in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Alter the Interactions with Both hACE2 and Human-Derived Antibody: A Free Energy of Perturbation Retrospective Study. **J Chem Inf Model**. 2021 Dec 27;61(12):6079-6084. doi: 10.1021/acs.jcim.1c01242. Epub 2021 Nov 22. PMID: 34806876.

FREITAS ARR, Beckedorff OA, Cavalcanti LPG, Siqueira AM, Castro DB, Costa CFD, Lemos DRQ, Barros ENC. The emergence of novel SARS-CoV-2 variant P.1 in Amazonas (Brazil) was temporally associated with a change in the age and sex profile of COVID-19 mortality: A population based ecological study. **Lancet Reg Health Am**. 2021 Sep;1:100021. doi: 10.1016/j.lana.2021.100021. Epub 2021 Jul 13. PMID: 34514463; PMCID: PMC8421758.

FREITAS, A. R. R., Giovanetti, M., & Alcantara, L. C. J. (2021). Emerging variants of SARS-CoV-2 and its public health implications. *InterAmerican Journal of Medicine and Health*, 4. <https://doi.org/10.31005/iajmh.v4i.181>

FUJINO T, Nomoto H, Kutsuna S, Ujiie M, Suzuki T, Sato R, et al. Novel SARS-CoV-2 variant identified in travelers from Brazil to Japan. **Emerg Infect Dis**. 2021 Apr [date cited]. <https://doi.org/10.3201/eid2704.210138>

GASQUE, N. De L.; Silva, F. A.; Rodrigues, F. G.; Marvulli, M. V. N.; Moraes, N. R. De. Covid-19 e grandes pandemias da humanidade: um olhar histórico e sociológico. **Revista Observatório**, v. 6, n. 3, p. a17pt, 1 maio 2020.

GEOGHEGAN, JL, Holmes EC. Evolutionary Virology at 40. **Genetics**. 2018 Dec;210(4):1151-1162. doi: 10.1534/genetics.118.301556. PMID: 30523166; PMCID: PMC6283181.

GIBSON PG, Qin L, Pua SH. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS. **Med J Aust.** 2020 Jul;213(2):54-56. e1. doi: 10.5694/mja2.50674. Epub 2020 Jun 22. PMID: 32572965; PMCID: PMC7361309.

GÓMEZ-PASTORA J, Weigand M, Kim J, Wu X, Strayer J, Palmer AF, Zborowski M, Yazer M, Chalmers JJ. Hyperferritinemia in critically ill COVID-19 patients - Is ferritin the product of inflammation or a pathogenic mediator? **Clin Chim Acta.** 2020 Oct; 509:249-251. doi: 10.1016/j.cca.2020.06.033. Epub 2020 Jun 21. PMID: 32579952; PMCID: PMC7306200.

GUO YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, Tan KS, Wang DY, Yan Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. **Mil Med Res.** 2020 Mar 13;7(1):11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0. PMID: 32169119; PMCID: PMC7068984.

HAAN, Cornelis A. M. de. Murine Coronavirus with an Extended Host Range Uses Heparan Sulfate as an Entry Receptor ASM Journals, **Journal of Virology** Vol. 79, No. 22.

HAN GZ, Worobey M. Homologous recombination in negative sense RNA viruses. **Viruses.** 2011 Aug;3(8):1358-73. doi: 10.3390/v3081358. Epub 2011 Aug 4. PMID: 21994784; PMCID: PMC3185808.

HARVEY, W.T., Carabelli, A.M., Jackson, B. *et al.* SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. **Nat Rev Microbiol** 19, 409–424 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00573-0>

HELMY, Y.A.; Fawzy, M.; Elaswad, A.; Sobieh, A.; Kenney, S.P.; Shehata, A.A. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. **J. Clin. Med.** 2020, 9, 1225. <https://doi.org/10.3390/jcm9041225>

HENDAUS MA, Jomha FA. Delta variant of COVID-19: A simple explanation, **Qatar Medical Journal** 2021;49 <http://dx.doi.org/10.5339/qmj.2021.49>

HOLMES EC. Error thresholds and the constraints to RNA virus evolution. **Trends Microbiol.** 2003 Dec;11(12):543-6. doi: 10.1016/j.tim.2003.10.006. PMID: 14659685; PMCID: PMC7172642.

HORBY P, Huntley C, Davies N, Edmunds J, Ferguson N, Medley G, et al. NERVTAG paper on COVID-19 variant of concern B.1.1.7 [Internet]. London: Crown copyright; 2021 [cited 2021 Jan 26]. Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/nervtag-paper-on-covid-19-variant-of-concern-b117>

JASSAT W, Mudara C, Ozougwu L, et al. Difference in mortality among individuals admitted to hospital with COVID-19 during the first and second waves in South Africa: a cohort study. **Lancet Glob Health.** 2021;9(9):e1216-e1225. doi:10.1016/S2214-109X(21)00289-8.

JASPER Fuk-Woo Chan, Kin-Hang Kok, Zheng Zhu, Hin Chu, Kelvin Kai-Wang To, Shuofeng Yuan & Kwok-Yung Yuen (2020) Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan, *Emerging Microbes & Infections*, 9:1, 221- 236, DOI: 10.1080/22221751.2020.1719902.

KANDEEL M, Mohamed MEM, Abd El-Lateef HM, Venugopala KN, El-Beltagi HS. Omicron variant genome evolution and phylogenetics. *J Med Virol*. 2021 Dec 10. doi: 10.1002/jmv.27515. Epub ahead of print. PMID: 34888894.

KARIM SSA, Karim QA. Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2021 Dec 11;398(10317):2126-2128. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02758-6. Epub 2021 Dec 3. Erratum in: *Lancet*. 2022 Jan 8;399(10320):142. PMID: 34871545; PMCID: PMC8640673.

KHAN, M.; Adil, S.F.; Alkhatlan, H.Z.; Tahir, M.N.; Saif, S.; Khan, M.; Khan, S.T. COVID-19: A Global Challenge with Old History, *Epidemiology and Progress SoFar*. *Molecules* 2021, 26, 39. <https://dx.doi.org/10.3390/molecules26010039>

KIM, Dongwan et al. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome Cell, Volume 181, Issue 4, 914 - 921.e10

KIM Y, Kim EJ, Lee SW, Kwon D. Review of the early reports of the epidemiological characteristics of the B.1.1.7 variant of SARS-CoV-2 and its spread worldwide. *Osong Public Health Res Perspect*. 2021 Jun;12(3):139-148. doi: 10.24171/j.phrp.2021.0037. Epub 2021 Jun 24. PMID: 34218651; PMCID: PMC8256300.

KOHL C, Brinkmann A, Dabrowski PW, Radonić A, Nitsche A, Kurth A. Protocol for Metagenomic Virus Detection in Clinical Specimens. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(1):48-57. <https://doi.org/10.3201/eid2101.140766>

KONINGS, F., Perkins, M.D., Kuhn, J.H. *et al.* SARS-CoV-2 Variants of Interest and Concern naming scheme conducive for global discourse. *Nat Microbiol* 6, 821–823 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00932-w>

KORBER B, Fischer WM, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*. 2020 Aug 20;182(4):812-827.e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.06.043. Epub 2020 Jul 3. PMID: 32697968; PMCID: PMC7332439.

LAI MM. SARS virus: the beginning of the unraveling of a new coronavirus. *J Biomed Sci*. 2003 Nov-Dec;10(6 Pt 2):664-75. doi: 10.1159/000074077. PMID: 14631105; PMCID: PMC7088931.

LATINNE, A., Hu, B., Olival, K.J. *et al.* Origin and cross-species transmission of bat coronaviruses in China. *Nat Commun* 11, 4235 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17687-3>

LAM, T.TY., Jia, N., Zhang, YW. *et al.* Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* 583, 282–285 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169->

LAUER SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, Azman AS, Reich NG, Lessler J. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med*. 2020 May 5;172(9):577-582. doi: 10.7326/M20-0504. Epub 2020 Mar 10. PMID: 32150748; PMCID: PMC7081172.

LAUXMANN MA, Santucci NE, Aufrán-Gómez AM. The SARS-CoV-2 Coronavirus and the COVID-19 Outbreak. **Int Braz J Urol.** 2020 Jul;46(suppl.1):6-18. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2020.S101. PMID: 32549071; PMCID: PMC7719995.

LEWANDOWSKI K, Xu Y, Pullan ST, Lumley SF, Foster D, Sanderson N, Vaughan A, Morgan M, Bright N, Kavanagh J, Vipond R, Carroll M, Marriott AC, Gooch KE, Andersson M, Jeffery K, Peto TEA, Crook DW, Walker AS, Matthews PC. 2020. Metagenomic Nanopore sequencing of influenza virus direct from clinical respiratory samples. **J Clin Microbiol** 58: e00963-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00963-19>.

LI C, Ren L. Recent progress on the diagnosis of 2019 Novel Coronavirus. **Transbound Emerg Dis.** 2020 Jul;67(4):1485-1491. doi: 10.1111/tbed.13620. Epub 2020 May 31. Erratum in: *Transbound Emerg Dis.* 2020 Nov;67(6):3076. PMID: 32395897; PMCID: PMC7272792.

LIND A, Barlinn R, Landaas ET, Andresen LL, Jakobsen K, Fladeby C, Nilsen M, Bjørnstad PM, Sundaram AYM, Ribarska T, Müller F, Gilfillan GD, Holberg-Petersen M. Rapid SARS-CoV-2 variant monitoring using PCR confirmed by whole genome sequencing in a high-volume diagnostic laboratory. **J Clin Virol.** 2021 Aug; 141:104906. doi: 10.1016/j.jcv.2021.104906. Epub 2021 Jul 7. PMID: 34273860; PMCID: PMC8262397.

LOPEZ MORA, D. E., Espinoza, D. J., Dabanch, D. J., & Cruz, D. R. (2021). Emergencia de variante Delta- B.1.617.2. Su impacto potencial en la evolución de la pandemia por SARS-CoV-2. **Boletín Micológico**, 36(1). <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2021.36.1.2883>

LOUIS G, Goetz C, Mellati N, Dunand P, Picard Y. Preliminary data on severe SARS-CoV-2 infection caused by the 501Y.V2 variant. **Anaesth Crit Care Pain Med.** 2021 Aug;40(4):100890. doi: 10.1016/j.accpm.2021.100890. Epub 2021 May 24. PMID: 34033926; PMCID: PMC8141690.

LU R, Zhao X, Li J, Niu P, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **Lancet.** 2020 Feb 22;395(10224):565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8. Epub 2020 Jan 30. PMID: 32007145; PMCID: PMC7159086.

MADIGAN, Michael T. et al.; **Microbiologia de Brock** tradução: Alice Freitas Versiani, et al.; revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca. 14<sup>a</sup> ed. Porto Alegre Artmed, 2016 987p.

MAGGI F, Novazzi F, Genoni A, Baj A, Spezia PG, Focosi D, Zago C, Colombo A, Cassani G, Pasciuta R, Tamborini A, Rossi A, Prestia M, Capuano R, Azzi L, Donadini A, Catanoso G, Grossi PA, Maffioli L, Bonelli G. Imported SARS-CoV-2 Variant P.1 in Traveler Returning from Brazil to Italy. **Emerg Infect Dis.** 2021 Apr;27(4):1249-1251. doi: 10.3201/eid2704.210183. Epub 2021 Feb 10. PMID: 33567246; PMCID: PMC8007292.

MAKONI M. South Africa responds to new SARS-CoV-2 variant. **Lancet.** 2021 Jan 23;397(10271):267. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00144-6. PMID: 33485437; PMCID: PMC7825846.

MALIK YA. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. **Malays J Pathol.** 2020 Apr;42(1):3-11. PMID: 32342926.

MALTA, Deborah Carvalho et al. A pandemia da COVID-19 e as mudanças no estilo de vida dos brasileiros adultos: um estudo transversal, 2020. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 29, n. 4, e2020407, set. 2020. doi.org/10.1590/s1679-49742020000400026.

MENEZES, Maria Elizabeth; Lima, Lenilza Mattos; Martinello, Flávia. *Rev. bras. anal. clin* ; 52(2): 122-130, 20200630. *ilus, graf.*

MEREDITH LW, Hamilton WL, Warne B, et al. Rapid implementation of SARS-CoV-2 sequencing to investigate cases of health-care associated COVID-19: a prospective genomic surveillance study. *Lancet Infect Dis.* 2020 Nov;20(11):1263-1272. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30562-4. Epub 2020 Jul 14. Erratum in: *Lancet Infect Dis.* 2021 Mar;21(3): e36. Erratum in: **Lancet Infect Dis.** 2021 Mar;21(3): e36. PMID: 32679081; PMCID: PMC7806511.

MESSALI S, Bertelli A, Campisi G, Zani A, Ciccozzi M, Caruso A, Caccuri F. A cluster of the new SARS-CoV-2 B.1.621 lineage in Italy and sensitivity of the viral isolate to the BNT162b2 vaccine. *J Med Virol.* 2021 Dec;93(12):6468-6470. doi: 10.1002/jmv.27247. Epub 2021 Aug 10. PMID: 34329486; PMCID: PMC8426698.

MICHELON, Cleonice Maria. *Rev. bras. anal. clin* ; 53(2): 109-116, 20210630. *ilus*  
Artigo em Português | LILACS | ID: biblio-1348661

MINAS GERAIS. Secretaria Estadual de Saúde. **Boletim Epidemiológico COVID-19: Doença causada pelo novo coronavírus-19.** 30 de julho de 2021.

MIRANDA, Gabriel A. D.; AZEVEDO, Gustavo Y. S.; GAROFOLO, Matheus S.; SILVA, Lillia S. B.; SILVA, Carlos A. Análise de Modelos Epidemiológicos para a COVID-19: Um Estudo de Casos de Belo Horizonte-MG durante a Pandemia de 2020. *In: ENCONTRO NACIONAL DE COMPUTAÇÃO DOS INSTITUTOS FEDERAIS (ENCOMPIF)*, 8., 2021, Evento Online. **Anais [...]**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Computação, 2021. p. 57-64. ISSN 2763-8766. DOI: <https://doi.org/10.5753/encompif.2021.15951>.

MITCHELL SL, St George K, Rhoads DD, Butler-Wu SM, Dharmarha V, McNult P, Miller MB. Understanding, Verifying, and Implementing Emergency Use Authorization Molecular Diagnostics for the Detection of SARS-CoV-2 RNA. *J Clin Microbiol.* 2020 Jul 23;58(8): e00796-20. doi: 10.1128/JCM.00796-20. PMID: 32381642; PMCID: PMC7383533.

MORAES, Lorrany de Almeida. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v.4, n.5 p. 22346-22353 sep./oct. 2021.

MORENS D.M, Fauci A.S. Emerging Pandemic Diseases: How We Got to COVID-19. *Cell.* 2020 Sep 3;182(5):1077-1092. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.021. Epub 2020 Aug 15. Erratum in: *Cell.* 2020 Oct 29;183(3):837. PMID: 32846157; PMCID: PMC7428724.

MORGELLO S. Coronaviruses and the central nervous system. *J Neurovirol.* 2020 Aug;26(4):459-473. doi: 10.1007/s13365-020-00868-7. Epub 2020 Jul 31. PMID: 32737861; PMCID: PMC7393812.

MSOMI, Nokuhanya, Lesseells, Richard, Oliveira, Túlio de. Africa: tackle HIV and COVID-19 together. **Nature** |Vol 600 |2 December 2021

NASCIMENTO BF, Andrade GR, Hespanhol MC, et al. Perfil epidemiológico da pandemia por COVID-19 no estado de minas gerais. *Braz J Infect Dis.* 2021; 25:101142. doi: 10.1016/j.bjid.2020.101142.



NELSON, Gard, Buzko, Oleksandr, et al. Molecular dynamic simulation reveals E484K mutation enhances spike RBD-ACE2 affinity and the combination of E484K, K417N and N501Y mutations (501Y.V2 variant) induces conformational change greater than N501Y mutant alone, potentially resulting in an escape mutante.

**bioRxiv** 2021.01.13.426558; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.01.13.426558>

NEOPANE, Puja, et al. "SARS-CoV-2 Variants Detection Using TaqMan SARS-CoV-2 Mutation Panel Molecular Genotyping Assays." *Infection and Drug Resistance* 14 (2021): 4471.

NI W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, Hou C, Wang H, Liu J, Yang D, Xu Y, Cao Z, Gao Z. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020 Jul 13;24(1):422. doi: 10.1186/s13054-020-03120-0. PMID: 32660650; PMCID: PMC7356137.

NONAKA CKV, Franco MM, Gräf T, de Lorenzo Barcia CA, de Ávila Mendonça RN, de Sousa KAF, Neiva LMC, Fosenca V, Mendes AVA, de Aguiar RS, Giovanetti M, de Freitas Souza BS. Genomic Evidence of SARS-CoV-2 Reinfection Involving E484K Spike Mutation, **Brazil**. *Emerg Infect Dis*. 2021 May;27(5):1522-1524. doi: 10.3201/eid2705.210191. Epub 2021 Feb 19. PMID: 33605869; PMCID: PMC8084516.

OF THE INTERNATIONAL, Coronaviridae Study Group et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature microbiology*, v. 5, n. 4, p. 536, 2020.

OGANDO NS, Zevenhoven-Dobbe JC, van der Meer Y, Bredenbeek PJ, Posthuma CC, Snijder EJ. The Enzymatic Activity of the nsp14 Exoribonuclease Is Critical for Replication of MERS-CoV and SARS-CoV-2. *J Virol*. 2020 Nov 9;94(23): e01246-20. doi: 10.1128/JVI.01246-20. PMID: 32938769; PMCID: PMC7654266.

OLIVEIRA, Beatriz Araujo et al. SARS-CoV-2 and the COVID-19 disease: a mini review on diagnostic methods. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* [online]. 2020, v. 62 [Accessed 1 February 2022], e44. Available from: <<https://doi.org/10.1590/S1678-9946202062044>>. Epub 29 June 2020. ISSN 1678-9946. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202062044>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE / Organização Mundial da Saúde. Atualização epidemiológica: Doença causada pelo coronavírus (COVID-19). 22 de julho de 2021. Brasília, D.F.: **OPAS/OMS**, 2021.

OPAS/OMS - Recomendações para informar e notificar Variantes de preocupação e Variantes de interesse de SARS-CoV-2 - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde 27 de julho 2021. Disponível em: [www.paho.org/pt/documentos/recomendações-para-informar-e-notificar-variantes-de-preocupação-e-variantes-de-interesse-sars](http://www.paho.org/pt/documentos/recomendações-para-informar-e-notificar-variantes-de-preocupação-e-variantes-de-interesse-sars).

O'TOOLE Á, Hill V, Pybus OG *et al*. Tracking the international spread of SARS-CoV-2 lineages B.1.1.7 and B.1.351/501Y-V2 with grinch [version 2; peer review: 3 approved]. *Wellcome Open Res* 2021, 6:121 (<https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.16661.2>)

OUDE Munnink BB, Sikkema RS, Nieuwenhuijse DF, Molenaar RJ, Munger E, Molenkamp R, van der Spek A, Tolsma P, Rietveld A, Brouwer M, Bouwmeester-Vincken N, Harders F, Hakze-van der Honing R, Wegdam-Blans MCA, Bouwstra RJ, GeurtsvanKessel C, van der Eijk AA, Velkers FC, Smit LAM, Stegeman A, van der Poel WHM, Koopmans MPG. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. **Science**. 2021 Jan 8;371(6525):172-177. doi: 10.1126/science.abe5901. Epub 2020 Nov 10. PMID: 33172935; PMCID: PMC7857398.

PALLEN MJ. Diagnostic metagenomics: potential applications to bacterial, viral and parasitic infections. **Parasitology**. 2014 Dec;141(14):1856-62. doi: 10.1017/S0031182014000134. Epub 2014 Feb 27. PMID: 24576467; PMCID: PMC4255322.

PALÚ, Isabela de Assis. Entendendo a importância do vírus causador de nova doença do coronavírus (COVID-19). **Connectionline** n.25 – 2021.

PATONE M, Thomas K. et al. Mortality and critical care unit admission associated with the SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England: an observational cohort study. **Lancet Infect Dis**. 2021 Nov;21(11):1518-1528. doi: 10.1016/S1473-3099(21)00318-2. Epub 2021 Jun 23. PMID: 34171232; PMCID: PMC8219489.

PAYNE S. Family *Coronaviridae*. **Viruses**. 2017;149-158. doi:10.1016/B978-0-12-803109-4.00017-9

PEARSON, Carl A.B. et al. Estimates of severity and transmissibility of novel SARS-CoV-2 variant 501Y.V2 in South Africa. **CMMID COVID-19 working group** Nov;21.

PILLAY, Sureshnee et al. “Whole Genome Sequencing of SARS-CoV-2: Adapting Illumina Protocols for Quick and Accurate Outbreak Investigation during a Pandemic.” **Genes** vol. 11,8 949. 17 Aug. 2020, doi:10.3390/genes11080949.

POLLARD CA, Morran MP, Nestor-Kalinoski AL. The COVID-19 pandemic: a global health crisis. **Physiol Genomics**. 2020 Nov 1;52(11):549-557. doi: 10.1152/physiolgenomics.00089.2020. Epub 2020 Sep 29. PMID: 32991251; PMCID: PMC7686876.

PUBLIC HEALTH ONTARIO. COVID-19 Variants of Concern (VOCs). Disponível em: <<https://www.publichealthontario.ca/en/diseases-and-conditions/infectious-diseases/respiratory-diseases/novel-coronavirus/variants>> Acesso em 29 de Dezembro de 2021.

QUICK J, Loman NJ, Duraffour S, Simpson JT, et al. Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance. **Nature**. 2016 Feb 11;530(7589):228-232. doi: 10.1038/nature16996. Epub 2016 Feb 3. PMID: 26840485; PMCID: PMC4817224.

RABAAN AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik YS, Dhama K, Yattoo MI, Bonilla-Aldana DK, Rodriguez-Morales AJ. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. **Infez Med**. 2020 Ahead Of Print Jun 1;28(2):174-184. PMID: 32275259.

RAMBAUT A, Loman N, Pybus O, et al. Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations - SARS CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology - Virological. virological.org, <https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563> (2020, accessed 7 February 2021).

RODRIGUEZ L, Pekkarinen PT. Et al. Systems-Level Immunomonitoring from Acute to Recovery Phase of Severe COVID-19. **Cell Rep Med.** 2020 Aug 25;1(5):100078. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100078. Epub 2020 Aug 5. PMID: 32838342; PMCID: PMC7405891.

ROTHER C, Schunk M, Sothmann P, et al. Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. **N Engl J Med.** 2020 Mar 5;382(10):970-971. doi: 10.1056/NEJMc2001468. Epub 2020 Jan 30. PMID: 32003551; PMCID: PMC7120970.

SALLAS J, Elídio GA, Rohlfes DB, Medeiros AC, Guilhem DB. A vigilância genômica do SARS-CoV-2 no Brasil na resposta à pandemia da COVID-19. **Rev Panam Salud Publica.** 2021;45; e75. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2021.75>.

SANJUÁN, R., Domingo-Calap, P. Mechanisms of viral mutation. **Cell. Mol. Life Sci.** 73, 4433–4448 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2299-6>

SANJUÁN, Rafael et al. “Viral mutation rates. ” **Journal of virology** vol. 84,19 (2010): 9733-48. doi:10.1128/JVI.00694-10

SALLAS J, Elídio GA, Rohlfes DB, Medeiros AC, Guilhem DB. A vigilância genômica do SARS-CoV-2 no Brasil na resposta à pandemia da COVID-19. **Rev Panam Salud Publica.** 2021;45;e75. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2021.75>

SHARMA, A.; Ahmad Farouk, I.; Lal, S.K. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. **Viruses** 2021, 13, 202. <https://doi.org/10.3390/v13020202>

SHARMA, Kiran. India's COVID cases dip sharply but fears of resurgence surface. **Nikkei Asia**, New Delhi, June 18, 2021. Disponível em: <https://asia.nikkei.com/Spotlight/Coronavirus/India-s-COVID-cases-dip-sharply-but-fears-of-resurgence-surface>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2022.

SHEN X, Tang H, McDanal C, et al. SARS-CoV-2 variant B.1.1.7 is susceptible to neutralizing antibodies elicited by ancestral spike vaccines. **Cell Host Microbe.** 2021 Apr 14;29(4):529-539.e3. doi: 10.1016/j.chom.2021.03.002. Epub 2021 Mar 5. PMID: 33705729; PMCID: PMC7934674.

SHEREEN MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. **J Adv Res.** 2020 Mar 16; 24:91-98. doi: 10.1016/j.jare.2020.03.005. PMID: 32257431; PMCID: PMC7113610.

SHI Y, Wang G, Cai XP, Deng JW, Zheng L, Zhu HH, Zheng M, Yang B, Chen Z. An overview of COVID-19. **J Zhejiang Univ Sci B.** 2020 May;21(5):343-360. doi: 10.1631/jzus.B2000083. Epub 2020 May 8. PMID: 32425000; PMCID: PMC7205601.

SIDDELL SG, Anderson R, Cavanagh D, Fujiwara K, Klenk HD, Macnaughton MR, Pensaert M, Stohlman SA, Sturman L, van der Zeijst BA. **Coronaviridae. Intervirology.** 1983;20(4):181-9. doi: 10.1159/000149390. PMID: 6654644; PMCID: PMC7182641.

SILVA, Joyce Karolina da, Almeida, Jacqueline Fátima Martins de. Análise filogenética do SARS-CoV-2 na pandemia de COVID-19 de 2020. **J. Health Sci. Inst.** 2021;39(1):7

SILVA, Larissa Amoroso da; Simonato, Luciana Estevam; Ramos, Rogério Rodrigo. Phylogeny and Pathogenesis of SARS-CoV-2: A Systematic Study. **Journal of Modern Medicinal Chemistry**, 2020, Vol. 8.

SINGLA R, Mishra A, Joshi R, Jha S, Sharma AR, Upadhyay S, Sarma P, Prakash A, Medhi B. Human animal interface of SARS-CoV-2 (COVID-19) transmission: a critical appraisal of scientific evidence. **Vet Res Commun**. 2020 Nov;44(3-4):119-130. doi: 10.1007/s11259-020-09781-0. Epub 2020 Sep 14. PMID: 32926266; PMCID: PMC7487339.

SOARES K. H. D., Oliveira L. da S., da Silva R. K. F., Silva D. C. de A., Farias A. C. do N., Monteiro E. M. L. M., & Compagnon M. C. (2021). Medidas de prevenção e controle da covid-19: revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, 13(2), e6071. <https://doi.org/10.25248/reas.e6071.2021>

SOUSA GO, Sales BN, Rodrigues AMX, Rocha GMM & Oliveira GAL (2020). Epidemiological evolution of COVID-19 in Brazil and worldwide. **Research, Society and Development**, 9(7): 1-13, e630974653.

SOUZA AL, Matos FA, Flintz RA, Marliere RCC, Presti MBL, Falconiere; CL. Manifestações gastrointestinais como apresentação inicial da COVID 19 em pediatria. **Resid Pediatr**. 2020;10(3):1-6 DOI: 10.25060/residpediatr-2020.v10n3-366

SOUZA, Giulia Pacheco, et al. Análise epidemiológica do COVID-19 no estado de Minas Gerais. **Revista de Atenção à Saúde** | São Caetano do Sul, SP | v. 19 | n. 68 | p. 237-246 | abr./jun. 2021 | ISSN 2359-4330.

SOUZA, Layse Costa de et al. SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2: uma revisão narrativa dos principais Coronavírus do século. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v.4, n.1, p.1419-1439 Jan/Feb. 2021.

SRINIVASAN S, Cui H, Gao Z, Liu M, Lu S, Mkandawire W, Narykov O, Sun M, Korkin D. Structural Genomics of SARS-CoV-2 Indicates Evolutionary Conserved Functional Regions of Viral Proteins. **Viruses**. 2020 Mar 25;12(4):360. doi: 10.3390/v12040360. PMID: 32218151; PMCID: PMC7232164.

STARR TN, Greaney AJ, Hilton SK, Ellis D, Crawford KHD, Dingens AS, Navarro MJ, Bowen JE, Tortorici MA, Walls AC, King NP, Veesler D, Bloom JD. Deep Mutational Scanning of SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Reveals Constraints on Folding and ACE2 Binding. **Cell**. 2020 Sep 3;182(5):1295-1310.e20. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.012. Epub 2020 Aug 11. PMID: 32841599; PMCID: PMC7418704.

TAHAMTAN A, Ardebili A. Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. **Expert Rev Mol Diagn**. 2020 May;20(5):453-454. doi: 10.1080/14737159.2020.1757437. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32297805; PMCID: PMC7189409.

THAKUR, V, Ratho, RK.OMICRON (B.1.1.529): A new SARS-CoV-2 variant of concern mounting worldwide fear. **J Med Virol**. 2021; 1- 4. doi:10.1002/jmv.27541

TAN, L., Wang, Q., Zhang, D. *et al.* Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. **Sig Transduct Target Ther** 5, 33 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0148-4>

TANG JW, Tambyah PA, Hui DS. Emergence of a new SARS-CoV-2 variant in the UK. **J Infect**. 2021 Apr;82(4): e27-e28. doi: 10.1016/j.jinf.2020.12.024. Epub 2020 Dec 28. PMID: 33383088; PMCID: PMC7834693.

TANG JW, Toovey OTR, Harvey KN, Hui DDS. Introduction of the South African SARS-CoV-2 variant 501Y.V2 into the UK. *J Infect.* 2021;82(4): e8-e10. doi: 10.1016/j.jinf.2021.01.007.

TEGALLY, H., Wilkinson, E., Giovanetti, M. *et al.* Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature* **592**, 438–443 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03402-9>

TEGALLY H, Wilkinson E, Lessells RJ. *et al.* Sixteen novel lineages of SARS-CoV-2 in South Africa. *Nat Med.* 2021 Mar;27(3):440-446. doi: 10.1038/s41591-021-01255-3. Epub 2021 Feb 2. PMID: 33531709.

TOMASOVIĆ, Ante *et al.* “SARS-Cov2 S Protein Features Potential Estrogen Binding Site.” *Food technology and biotechnology* vol. 59,1 (2021): 24-30. doi:10.17113/ftb.59.01.21.6820

TRABULSI, L.R.; Alterthum F. *Microbiologia*, 6ª ed. São Paulo Editora: Atheneu 2015

UZUNIAN, Armênio Coronavirus SARS-CoV-2 and Covid-19. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* [online]. 2020, v. 56 [Acessado 1 Fevereiro 2022], e3472020. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/1676-2444.20200053>>. Epub 25 Set 2020. ISSN 1678-4774. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20200053>.

VASCONCELOS, Maria José Vilaça de, Figueiredo, José Edson Fontes Figueiredo. Mutagênese dirigida por oligonucleotídeos: bases históricas e suas aplicações em engenharia genética /-- Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2017. 43 p.: il. -- (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 217).

VASHIST SK. In Vitro Diagnostic Assays for COVID-19: Recent Advances and Emerging Trends. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Apr 5;10(4):202. doi: 10.3390/diagnostics10040202. PMID: 32260471; PMCID: PMC7235801.

Valle, Nathália Ferreira Palomo; Young, Anna Luiza Soares *et al.* Paciente com Chikungunya evoluindo com Síndrome de Angústia Respiratória do Adulto grave *Rev. Soc. Bras. Clín. Méd* ; 17(4): 183-187, dez 2019.

V'KOVSKI, P., Kratzel, A., Steiner, S. *et al.* Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol* 19, 155–170 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>

VELAVAN TP, Meyer CG. The COVID-19 epidemic. *Trop Med Int Health.* 2020;25(3):278-280. doi:10.1111/tmi.13383

VOELKERDING KV, Dames SA, Durtschi JD. Next-generation sequencing: from basic research to diagnostics. *Clin Chem.* 2009 Apr;55(4):641-58. doi: 10.1373/clinchem.2008.112789. Epub 2009 Feb 26. PMID: 19246620.

VOLOCH CM, da Silva Francisco R Jr, de Almeida LGP, Cardoso CC, *et al.* Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, **Brazil**. *J Virol.* 2021 Mar 1;95(10): e00119-21. doi: 10.1128/JVI.00119-21. Epub ahead of print. PMID: 33649194; PMCID: PMC8139668.

VOLZ E, Mishra S, Chand M, Barrett JC. *Et al.* Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Nature.* 2021 May;593(7858):266-269. doi: 10.1038/s41586-021-03470-x. Epub 2021 Mar 25. PMID: 33767447.

WANG C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):470-473. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9. Epub 2020 Jan 24. Erratum in: *Lancet*. 2020 Jan 29; PMID: 31986257; PMCID: PMC7135038.

WANG, Lulan, and Genhong Cheng. "Sequence analysis of the emerging SARS-CoV-2 variant Omicron in South Africa." *Journal of medical virology* (2021).

WANG MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Nov 25; 10:587269. doi: 10.3389/fcimb.2020.587269. PMID: 33324574; PMCID: PMC7723891.

WARR A, Robert C, Hume D, Archibald A, Deeb N, Watson M. Exome Sequencing: Current and **Future Perspectives**. *G3 (Bethesda)*. 2015 Jul 2;5(8):1543-50. doi: 10.1534/g3.115.018564. PMID: 26139844; PMCID: PMC4528311.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: Tracking SARS-CoV-2 variants. Janeiro 2021  
Disponível em: <<https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>> Acesso em: 25 de outubro de 2021.

WILDER-SMITH A, Freedman DO. Isolation, quarantine, social distancing and community containment: pivotal role for old-style public health measures in the novel coronavirus (2019-nCoV) outbreak. *J Travel Med*. 2020 Mar 13\*\*;27(2): taaa020. doi: 10.1093/jtm/taaa020. PMID: 32052841; PMCID: PMC7107565.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. COVID-19. **Weekly Epidemiological Update Edition 55**, published 31 August 2021 Disponível em: <[ww.who.int/whopublications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---31-august-2021](http://www.who.int/whopublications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---31-august-2021)> Acesso em: 05 de novembro de 2021.

XIAO AT, Tong YX, Gao C, Zhu L, Zhang YJ, Zhang S. Dynamic profile of RT-PCR findings from 301 COVID-19 patients in Wuhan, China: A descriptive study. *J Clin Virol*. 2020 Jun; 127:104346. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104346. Epub 2020 Apr 11. PMID: 32361324; PMCID: PMC7151472.

YANG, TJ., Yu, PY., Chang, YC. *et al.* Effect of SARS-CoV-2 B.1.1.7 mutations on spike protein structure and function. *Nat Struct Mol Biol* 28, 731–739 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41594-021-00652-z>

YANG Y, Yang M, Yuan J, Wang F, Wang Z, Li J, Zhang M, Xing L, Wei J, Peng L, Wong G, Zheng H, Wu W, Shen C, Liao M, Feng K, Li J, Yang Q, Zhao J, Liu L, Liu Y. Laboratory Diagnosis and Monitoring the Viral Shedding of SARS-CoV-2 *Infection. Innovation (N Y)*. 2020 Nov 25;1(3):100061. doi: 10.1016/j.xinn.2020.100061. Epub 2020 Nov 4. PMID: 33169119; PMCID: PMC7609236.

OUNES N, Al-Sadeq DW, Al-Jighefee H, Younes S, Al-Jamal O, Daas HI, Yassine HM, Nasrallah GK. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses*. 2020 May 26;12(6):582. doi: 10.3390/v12060582. PMID: 32466458; PMCID: PMC7354519.

ZANARDINI LK, Zanardini MK. CORONAVÍRUS: UMA ANÁLISE GENÉTICA COMPARATIVA AO SARS. **Braz J Infect Dis.** 2021; 25:101208. doi: 10.1016/j.bjid.2020.101208

ZEIDLER, Agnieszka, and Tomasz M. Karpinski. "SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2 comparison of three emerging Coronaviruses." *Jundishapur Journal of Microbiology* 13.6 (2020).

ZHANG H, Ai JW, Yang W, Zhou X, He F, Xie S, Zeng W, Li Y, Yu Y, Gou X, Li Y, Wang X, Su H, Zhu Z, Xu T, Zhang W. Metatranscriptomic Characterization of Coronavirus Disease 2019 Identified a Host Transcriptional Classifier Associated With Immune Signaling. **Clin Infect Dis.** 2021 Aug 2;73(3):376-385. doi: 10.1093/cid/ciaa663. PMID: 32463434; PMCID: PMC7314197.

ZHOU, P., Yang, XL., Wang, XG. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579, 270–273 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>

ZHU N, Zhang D, Wang W, Li X. et al. China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **N Engl J Med.** 2020 Feb 20;382(8):727-733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017. Epub 2020 Jan 24. PMID: 31978945; PMCID: PMC7092803