

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Genética, Ecologia e Evolução
Programa de Pós-graduação em Genética

Rillery Calixto Dias

**VIGILÂNCIA GENÔMICA DO VÍRUS SARS-CoV-2 DURANTE A TERCEIRA ONDA
EPIDÊMICA EM MINAS GERAIS**

Belo Horizonte
2023

Rillery Calixto Dias

**VIGILÂNCIA GENÔMICA DO VÍRUS SARS-CoV-2 DURANTE A TERCEIRA ONDA
EPIDÊMICA EM MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Genética.

Orientador: Prof. Dr. Renan Pedra de Souza

Coorientador: Prof. Dr. Renato Santana de Aguiar

Belo Horizonte
2023

043

Dias, Rillery Calixto.

Vigilância genômica do vírus SARS-CoV-2 durante a terceira onda epidêmica em Minas Gerais [manuscrito] / Rillery Calixto Dias. – 2023.

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

Orientador: Prof. Dr. Renan Pedra de Souza. Coorientador: Prof. Dr. Renato Santana de Aguiar.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

1. Genética. 2. Covid-19. 3. Betacoronavirus. I. Souza, Renan Pedra de. II. Aguiar, Renato Santana de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às quatorze horas do dia **31 de maio de 2023**, reuniu-se, a Comissão Examinadora de Dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: "**Vigilância genômica do vírus SARS-CoV-2 durante a terceira onda epidêmica em Minas Gerais**", requisito para obtenção do grau de Mestre em **Genética**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, **Renan Pedra de Souza**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição de resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	CPF	Indicação
Renan Pedra de Souza	UFMG	064.488.066-01	APROVADA
Anderson Miyoshi	UFMG	034.357.036-01	APROVADA
Diego Pandeló José	UFTM	057.590.916-11	APROVADA

Pelas indicações, a candidata foi considerada: APROVADA

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 31 de maio de 2023.

Renan Pedra de Souza

Anderson Miyoshi

Diego Pandeló José



Documento assinado eletronicamente por **Anderson Miyoshi, Membro de comissão**, em 31/05/2023, às 16:40, 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 **Renan Pedra de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 31/05/2023, às 16:48, 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 **Diego Pandeló José, Usuário Externo**, em 06/06/2023, às 15:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, 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 **2348468** e o código CRC **B8C68600**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

FOLHA DE APROVAÇÃO

"Vigilância genômica do vírus SARS-CoV-2 durante a terceira onda epidêmica em Minas Gerais"

Rillery Calixto Dias

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Renan Pedra de Souza

UFMG

Anderson Miyoshi

UFMG

Diego Pandeló José

UFTM

Belo Horizonte, 31 de maio de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Anderson Miyoshi, Membro de comissão**, em 31/05/2023, às 16:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decretonº 10.543, de 13 de novembro de](#)

[2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renan Pedra de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 31/05/2023, às 16:48, 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 **Diego Pandeló José, Usuário Externo**, em 06/06/2023, às 15:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, 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, informando o código verificador **2348487** e o código CRC **B2084D52**.

Referência: Processo nº 23072.233160/2023-90

SEI nº 2348487

Dedico este trabalho a todas as pessoas que perderam suas vidas durante a pandemia de COVID-19, especialmente aos meus tios Karla e Hélder.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre esteve ao meu lado, dando-me forças para continuar e permitindo-me realizar este sonho.

Aos meus pais, Rita e Márcio, que me apoiaram em cada etapa e não mediram esforços para me ajudar. Obrigada por acreditarem em mim. Eu amo vocês.

Ao meu namorado Ryan, por todo o carinho, paciência, apoio e conselhos que foram essenciais para esta conquista. E, principalmente, por sempre me incentivar a ser alguém melhor.

Aos meus primos Tamiris e Carlos, que foram os primeiros a estender as mãos para mim em uma nova cidade.

À minha amiga Ana Clara, que esteve ao meu lado desde o início da minha trajetória no mundo da ciência. Obrigada por sempre me apoiar, escutar, aconselhar e se preocupar.

Ao meu orientador, professor Dr. Renan Pedra, pelo acolhimento, carinho, disponibilidade e ajuda intelectual para o desenvolvimento deste trabalho. Sempre esteve disposto a ouvir e auxiliar em todos os momentos, e isso me ajudou a seguir em frente.

Ao meu coorientador, professor Dr. Renato Santana, pelo acolhimento, carinho, preocupação e por toda a ajuda profissional.

Aos meus colegas e amigos do laboratório LBI: Aryel Paz, Daniel Queiroz, Diego Menezes, Fernanda Souza, Giovanna Sena, Isabela Braga, João Locke, João Victor, Joice Silva, Jorge Ferreira, Luíza Campos, Paula Fonseca, Rafael Marques e Wallyson Costa, por toda a ajuda.

Aos membros da banca examinadora que gentilmente se disponibilizaram a contribuir para o meu trabalho.

A todas as outras pessoas e agências de fomento que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desta dissertação.

“O caminho para o progresso não é rápido nem fácil”.

(Marie Curie)

RESUMO

A doença do coronavírus (COVID-19), surgiu em 08 de dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, na República Popular da China, e foi relatada pela primeira vez à Organização Mundial da Saúde (OMS) em 30 de dezembro do mesmo ano. A COVID-19, causada pelo novo vírus SARS-CoV-2, é uma doença infecciosa respiratória aguda que é transmitida, principalmente pelo trato respiratório. Desde o seu surgimento, o vírus demonstrou uma capacidade considerável de transmissão e infecciosidade, tornando-se um problema de escala global em menos de três meses. Milhares de mutações e alterações que podiam fornecer ao vírus uma vantagem seletiva, contribuindo para aumentar ainda mais a transmissibilidade e a capacidade de evadir a resposta imune do hospedeiro, apareceram rapidamente. A partir disso, ficou clara a necessidade da adoção de medidas como os processos de vigilância genômica, para entender melhor os padrões de dispersão e evolução do vírus, principalmente em estados que foram severamente atingidos pela doença, como Minas Gerais (MG). No final de 2021, o aparecimento da variante Ômicron impulsionou uma terceira onda de infecções e mortes no Brasil, com o maior número de casos simultâneos desde o início da pandemia. Desta forma, esta dissertação teve como objetivo realizar a vigilância genômica do SARS-CoV-2 durante a terceira onda epidêmica em Minas Gerais. Para isso realizamos um estudo de base populacional, juntamente com um processo de vigilância genômica, em 15 Gerências Regionais de Saúde (GRS) do estado, com ajuda do Observatório de Vigilância Genômica de Minas Gerais (OViGenMG). Entre o período de 10 de outubro de 2021 e 2 de abril de 2022, recebemos 2561 amostras positivas para o vírus, provenientes das GRSs selecionadas. As amostras foram inicialmente genotipadas por RT-qPCR e posteriormente 162 foram selecionadas para serem sequenciadas na plataforma MiSeq (Illumina), com o objetivo de identificar e confirmar sublinhagens do vírus. Do total de amostras analisadas, 753 foram classificadas como VOC Delta, 1782 como VOC Ômicron e 26 não apresentaram nenhum resultado. A variante Ômicron foi identificada inicialmente através de análises genotípicas na semana 50 de 2021 nas regionais de Belo Horizonte, Montes Claros e Varginha, quatro semanas após a Organização Mundial da Saúde (OMS) ter reportado a primeira identificação da variante no mundo. Nesta mesma semana, foi observada uma transição na prevalência das variantes nas GRSs em Minas Gerais. A variante Delta foi gradualmente substituída pela Ômicron, que atingiu a dominância ainda no final de dezembro de 2021. Durante a terceira onda epidêmica em MG, foi identificado através de análises filogenéticas o aparecimento da primeira sublinhagem na amostragem, denominada BA.2, cerca de 11 semanas após a identificação da BA.1. Os resultados deste estudo

demonstraram a frequência das subvariantes da Ômicron nas GRSs de MG durante a terceira onda epidêmica e sugeriram as principais datas e locais de introdução da variante no estado. Além disso, destacou-se a relevância da vigilância genômica na detecção precoce de novas variantes.

Palavras-chave: Minas Gerais, Ômicron, SARS-CoV-2, Terceira onda, Vigilância genômica.

ABSTRACT

The coronavirus disease (COVID-19) emerged on December 8th, 2019, in the city of Wuhan, People's Republic of China, and was first reported to the World Health Organization (WHO) on December 30th of the same year. COVID-19, caused by the novel SARS-CoV-2 virus, is an acute respiratory infectious disease primarily transmitted through the respiratory tract. Since its emergence, the virus has demonstrated a considerable capacity for transmission and infectivity, becoming a global problem in less than three months. Thousands of mutations and alterations that could provide the virus a selective advantage, contributing to further increase transmission and the ability to evade host immune response, appeared rapidly. From this, the need for adopting measures such as genomic surveillance processes became clear to better understand virus dispersion and evolution patterns, especially in states severely affected by the disease, such as Minas Gerais (MG). At the end of 2021, the emergence of the Omicron variant propelled a third wave of infections and deaths in Brazil, with the most significant number of simultaneous cases since the beginning of the pandemic. Therefore, this dissertation aimed to carry out genomic surveillance of SARS-CoV-2 during the third epidemic wave in Minas Gerais. For this, we conducted a population-based study, along with a genomic surveillance process, in 15 Regional Health Units (RHUs) of the state, with the help of the *Observatório de Vigilância Genômica do Estado de Minas Gerais* network (OviGen). Between October 10th, 2021, and April 2nd, 2022, we received 2561 positive samples for the virus from the selected RHM. The samples were initially genotyped by RT-qPCR, and subsequently, 162 were selected for sequencing on the MiSeq platform (Illumina), aiming to identify and confirm virus sublineages. Of the total samples analyzed, 753 were classified as Delta VOC, 1782 as Omicron VOC, and 26 did not present any result. The Omicron variant was initially identified through genotypic analysis in week 50 of 2021 in the regions of Belo Horizonte, Montes Claros, and Varginha, four weeks after the World Health Organization (WHO) reported the first identification of the variant in the world. In the same week, a transition in the prevalence of variants was observed in the RHU of Minas Gerais. The Delta variant was replaced by Omicron, which reached dominance by the end of 2021. During the third epidemic wave in MG, the first sublineage in the sampling, called BA.2, was identified through phylogenetic analysis about 11 weeks after the identification of BA.1. The results of this study demonstrated the frequency of Omicron subvariants in the RHU of MG during the third epidemic wave and suggested the main dates and locations of variant introduction to the state. Additionally, the relevance of genomic surveillance in the early detection of new variants was highlighted.

Keywords: Minas Gerais, Omicron, SARS-CoV-2, Third wave, Genomic surveillance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da partícula e genoma viral do SARS-CoV-2	22
Figura 2 - Proteases necessárias para a entrada viral	23
Figura 3 - Mutações na região da proteína <i>spike</i> e comparações entre as subvariantes BA.1 e BA.2 da Ômicron	27
Figura 4 - Representação gráfica do número de casos confirmados, por dia, e as ondas epidêmicas no estado de Minas Gerais	30
Figura 5 - Gerências Regionais de Saúde de Minas Gerais selecionadas para o estudo	34
Figura 6 - Distribuição do número de amostras recebidas pelas GRS de Minas Gerais entre as semanas epidemiológicas 41 de 2021 a 13 de 2022	38
Figura 7 - Distribuição e frequência das variantes do vírus SARS-CoV-2	39
Figura 8 - Frequência mediana das variantes Delta e Ômicron em Minas Gerais	40
Figura 9 - Frequência mediana da deleção 69/70	40
Figura 10 - Filogenia de inferência de máxima verossimilhança das sublinhagens da variante Ômicron	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos de vigilância genômica do vírus SARS-CoV-2 no Brasil.....	48
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

3CLPro	3C-like proteinase
μL	Microlitro
ACE2	Angiotensin-Converting Enzyme 2
CD	Connector Domain
CH	Central Helix
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
Coolabs	Cooperativa de laboratórios da UFMG
CP	Cytoplasmic tail domain
CT	Cycle Threshold
CTSL	Cathepsin L
E	Envelope
FL	Fusion Loop
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
GRS	Gerência Regional de Saúde
HEL	Helicase
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HR	Heptad Repeat
LBI	Laboratório de Biologia Integrativa
LINBIO-UFMG	Laboratório Institucional de Pesquisa em Biomarcadores da UFMG
M	Membrana
MCTI	Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome
MG	Minas Gerais
mL	Mililitros
ML	Máxima Verossimilhança
MS	Ministério da Saúde
N	Nucleocapsídeo
NGS	Next-Generation Sequencing
NSP	Nonstructural Protein
NTD	N-Terminal Domain
NUPAD-UFMG	Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico da UFMG
OMS	Organização Mundial da Saúde

ORF	Open Reading Frame
OViGen	Observatório de Vigilância Genômica
PLPRO	Papain Like Protease
PRRA	Proline–Arginine–Arginine–Alanine
RBD	Receptor Binding Domain
RdRp	RNA-dependent RNA polymerase
RE	Retículo Endoplasmático
Rede Vírus-MCTI	Laboratórios de Campanha e Rede Corona-ômica-MCTI
RNA _m	RNA mensageiro
RNA	Ribonucleic Acid
RT-qPCR	Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction
S	Spike
S1	Subunidade S1
S2	Subunidade S2
SARS-CoV	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus
SARS-COV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SD	Subdomain
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SE	Semana Epidemiológica
SES-MG	Secretária de Estado de Saúde de Minas Gerais
TC	Tomografia Computadorizada
TM	Transmembrane Domain
TMPRSS2	Transmembrane Serine Protease 2
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VOC	Variant of Concern
VOI	Variant of Interest
VUM	Variants under Monitoring

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 Pandemia de COVID-19	19
1.2 SARS-CoV-2	21
1.3 Variantes virais.....	24
1.4 COVID-19 em Minas Gerais, Brasil.....	27
1.5 Ondas epidêmicas.....	29
1.6 Vigilância genômica	31
2 OBJETIVOS.....	33
2.1 Objetivo geral	33
2.2 Objetivos específicos	33
3 METODOLOGIA	34
3.1 Desenho experimental.....	34
3.2 Extração e purificação do material genético.....	35
3.3 Genotipagem.....	36
3.4 Sequenciamento.....	37
4 RESULTADOS.....	38
5 DISCUSSÃO	42
6 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

1.1 Pandemia de COVID-19

A doença do coronavírus (COVID-19) surgiu em 08 de dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, província de Hubei, na República Popular da China, e foi relatada pela primeira vez à Organização Mundial da Saúde (OMS) em 30 de dezembro do mesmo ano, após um aumento progressivo no número de casos. O comunicado, inicialmente, se referia aos vários casos de pneumonia de etiologia desconhecida que cresciam rapidamente e que já se espalhavam para outras regiões do leste asiático (BALOCH et al., 2020; DU et al., 2020).

Posteriormente, o agente etiológico foi identificado como um novo vírus da família dos coronavírus, que ainda não havia sido identificado em seres humanos. Desde 1960 os coronavírus são conhecidos por causar infecções humanas, no entanto, apenas nas últimas duas décadas é que mostraram um potencial de causar epidemias mortais. Em 2002, o mundo testemunhou a primeira doença letal induzida por coronavírus, denominada síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV). Em 2012, outro surto de infecção por coronavírus foi relatado na Arábia Saudita, conhecido como síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) (KHAN et al., 2021; ZHU et al., 2020).

O vírus responsável pela COVID-19, nomeado como SARS-CoV-2, apresentou 80% de identidade filogenética com o SARS-CoV e 50% de semelhança com o MERS-CoV. Mesmo com a considerável semelhança filogenética, considerou-se inicialmente, que o vírus recém-descoberto era ineficiente em transmissões de pessoa para pessoa, em comparação com os patógenos da mesma família. No entanto, a percepção inicial sobre a sua transmissibilidade foi alterada à medida que a infecção foi se mostrando altamente contagiosa e transmissível, com o aumento exponencial no número de casos (ABDELRAHMAN; LI; WANG, 2020; MURALIDAR et al., 2020).

Nas fases iniciais do surto de 2020, surgiu a hipótese de que pacientes infectados poderiam ter visitado o mercado de animais e frutos do mar na cidade de Wuhan, levantando a possibilidade de uma transmissão do vírus de animais para pessoas. No entanto, foi possível identificar que alguns indivíduos contraíram a COVID-19 sem visitar o mercado. De acordo com estudos epidemiológicos apenas 22% dos pacientes foram expostos diretamente ao mercado, 32% dos casos tiveram contato próximo com os casos suspeitos e 51% não tiveram contato com nenhuma das fontes (LI et al., 2020). Desta forma, as informações sugerem que houve uma transmissão viral de humano para humano, além de uma capacidade de propagação, resultando em grupos de doentes provenientes de um único paciente (BCHETNIA et al., 2020).

A COVID-19 foi definida como uma doença infecciosa respiratória aguda sendo transmitida, principalmente, pelo trato respiratório. A maioria das infecções pelo SARS-CoV-2 ocorrem através do contato direto entre pessoas, principalmente, por gotículas respiratórias liberadas durante a fala, espirro ou tosse. Partículas virais são emitidas por pessoas em uma variedade de tamanhos, como pequenas gotículas ou aerossóis, que podem ficar suspensas no ar por horas e fluir com correntes de ar por tempo suficiente para infectar os transeuntes. A infecção também pode ocorrer através de superfícies contaminadas com o vírus, apesar de ser uma via menos comum. Além disso, pessoas infectadas podem ser contagiosas antes do início dos sintomas, já que muitos casos confirmados em laboratório eram assintomáticos (EL-WAHAB et al., 2020; HAN et al., 2020; SHARMA; FAROUK; LAL, 2021).

Os sintomas da COVID-19 são inespecíficos e a apresentação da doença pode variar de nenhum sintoma (indivíduos assintomáticos) ou poucos sintomas, a pneumonia grave e morte. Porém, os sinais e sintomas mais comuns incluem febre, dor de cabeça, tosse, mialgia, anosmia (perda do olfato), hiposmia (diminuição do olfato), ageusia (perda do sentido do paladar), produção de escarro, diarreia, dispneia e pneumonia. Complicações adicionais como a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), lesão cardíaca aguda e várias infecções secundárias também foram encontradas em indivíduos com estágio avançado de infecção em unidades de terapia intensiva hospitalar (ISER et al., 2020; WU et al., 2020).

Tendo em vista o potencial de disseminação e transmissibilidade do vírus a OMS, declarou em 30 de janeiro de 2020, que a doença causada pelo novo coronavírus se tratava de uma emergência de saúde pública de importância nacional. No entanto, desde o início de março, os casos aumentaram rapidamente fora da China, e em decorrência do novo cenário epidemiológico mundial a OMS declarou a COVID-19 uma pandemia, em 11 de março de 2020. Esta mudança de classificação não ocorreu somente pela gravidade da doença, mas também pela rápida disseminação geográfica em um curto espaço de tempo (OPAS, 2020a; OPAS, 2020b).

Desde o início da pandemia, o Brasil foi um dos países mais severamente atingidos pela COVID-19, com uma rápida disseminação espacial de casos e mortes. O primeiro caso no país foi confirmado no dia 26 de fevereiro de 2020, apenas dois meses após o início dos casos na China, e em menos de duas semanas o vírus já havia sido detectado em todas as regiões do Brasil (LOBO et al., 2020). Em março de 2021 o país relatou mais de 11 milhões de casos e quase 300 mil mortes, representando respectivamente 9,5% e 10,4% dos números no cenário mundial, e sendo o maior responsável pelo epicentro da pandemia na América Latina (CASTRO et al., 2021).

Minas Gerais, está localizado na região Sudeste do Brasil, é o segundo estado mais populoso, com 19.597.330 habitantes, e o quarto com a maior área territorial, dividida em 28 Gerências Regionais de Saúde (GRS) que são responsáveis pelo gerenciamento das ações de saúde em nível regional. Por estar localizado na região mais rica do país, com uma alta conectividade rodoviária e um grande fluxo de mercadorias e pessoas, o estado de Minas Gerais foi um dos mais atingidos pela pandemia de COVID-19. Tendo em vista o potencial de transmissibilidade do patógeno, a vigilância genômica no mundo, no Brasil e, principalmente no estado de Minas Gerais, tem sido crucial para o gerenciamento dessa emergência de saúde pública, permitindo o rastreamento de padrões de transmissão viral à medida que a epidemia se desenvolve (AMARAL et al., 2021; RESENDE et al., 2021a; SILVA et al., 2022a).

1.2 SARS-CoV-2

Os coronavírus (CoVs), pertencem à subfamília *Coronavirinae* da família *Coronaviridae*, na ordem dos *Nidovirales*. A subfamília *Coronavirinae* consiste em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* e *Gammacoronavirus*, com o vírus SARS-CoV-2 sendo classificado no gênero *Betacoronavirus* com base na análise da sequência de seu genoma. Formam um grupo de vírus de aproximadamente 80 a 120 nm de diâmetro, envelopados de forma arredondada, e caracterizados pela presença de projeções em forma de pico em sua superfície, que são responsáveis pela aparência típica semelhante a uma coroa, dando-lhe o nome de coronavírus (KHAN et al., 2021; SHARMA; FAROUK; LAU, 2021).

O SARS-CoV-2 possui um extenso genoma de RNA fita simples de senso positivo, não segmentado, com aproximadamente 30.000 bases, que codificam cerca de 9.860 aminoácidos. Na região 5' terminal do genoma, a ORF1a e a ORF1b codificam 16 proteínas não estruturais (nsp 1-16) que compõem o complexo replicase, e são responsáveis pela multiplicação do vírus. A região 3' terminal do genoma codifica seis proteínas acessórias e quatro proteínas estruturais: *spike* (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N) (Figura 1), das quais *spike* medeia a entrada do vírus nas células hospedeiras, além de ser o principal antígeno apresentado na superfície do SARS-CoV-2 (BCHETNIA et al., 2020; HARRISON; LIN; WANG, 2020; ZHANG et al., 2021).

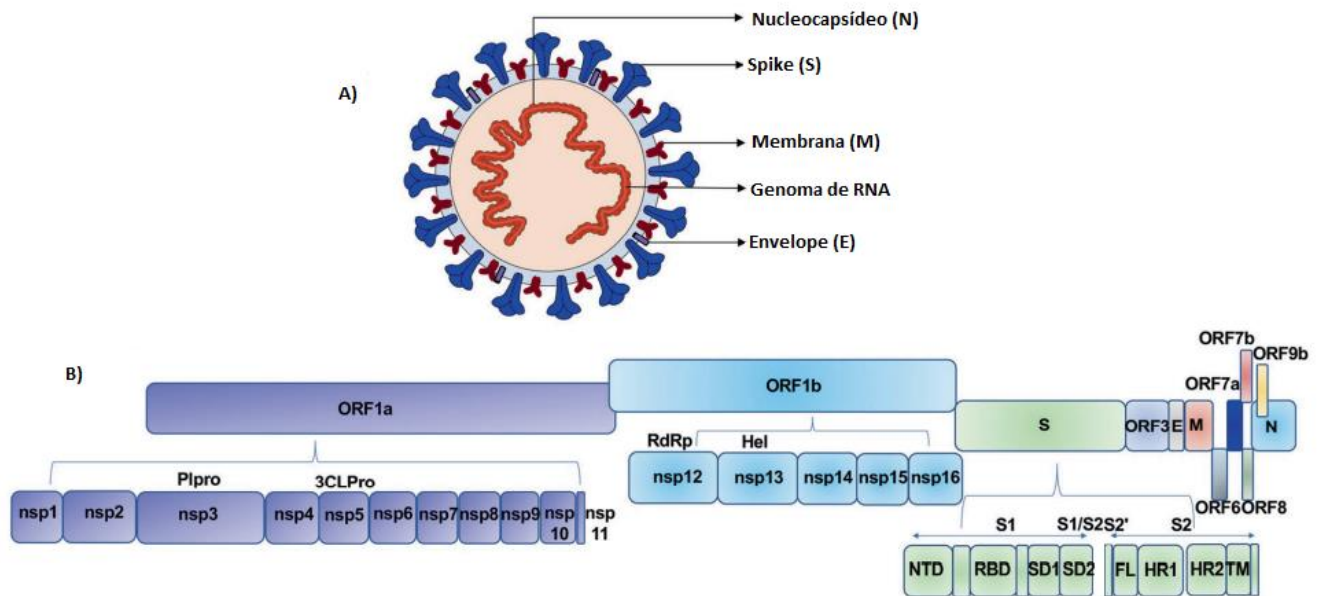


Figura 1. Diagramas esquemáticos da partícula e do genoma do vírus SARS-CoV-2. A) Proteínas estruturais do vírus, nucleocapsídeo (N), *spike* (S), membrana (M) e envelope (E); e genoma de RNA. B) Genoma viral detalhado, inclui ORF1a e ORF1b que codificam proteínas não estruturais (nsp1-11, 12-16), incluindo Plpro (papaína como protease), 3CLPro (3C-like proteinase), RdRp (RNA polimerase dependente de RNA) e Hel (Helicase). S codifica proteínas *spike* e a subunidade S1 (NTD, domínio N-terminal), (RBD, domínio de ligação ao receptor), (SD1 e SD2, subdomínio 1 e 2, respectivamente) e subunidade S2 (FL, alça de fusão), (HR1 e HR2, repetição de heptad 1 e 2, respectivamente), (TM, domínio transmembranar). A região das ORF3, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8 e ORF9, codificam proteínas acessórias para o vírus (adaptado de ZHANG et al., 2021).

A proteína *spike* é uma glicoproteína do envelope viral, montada como um homotrímero transmembranar que medeia a penetração do vírus na célula hospedeira, e é dividida em duas subunidades associadas não covalentemente. A subunidade S1 catalisa a ligação ao receptor celular ACE2 (*Angiotensin-Converting Enzyme 2*) e a subunidade S2 é responsável pelo processo de fusão do envelope viral à membrana celular do hospedeiro. O envolvimento do ACE2 por glicoproteínas de entrada viral induz alterações conformacionais em ambas as subunidades que unem as membranas viral e celular, criando um poro de fusão que permite que o genoma viral alcance o interior celular (HARRISON; LIN; WANG, 2020; JACKSON et al., 2022).

O ACE2, um dos mais importantes receptores celulares utilizados no processo de adsorção do SARS-CoV-2, é amplamente expresso nas células epiteliais alveolares tipo II e nas células ciliadas dos pulmões, tornando-as mais propícias a infecções. O tropismo viral acentuado nessas células, mediado pelo ACE2, é um dos principais fatores responsáveis pelos sintomas respiratórios frequentemente vistos na COVID-19. No entanto, esta proteína também pode ser encontrada, mesmo em menor quantidade, em outros tipos de células e tecidos, incluindo coração, vasos sanguíneos, rins, fígado e trato gastrointestinal. A expressão de ACE2 em vários outros locais contribui para a infecção de múltiplos tecidos pelo SARS-CoV-2

(PILLAY, 2020; SANYAL, 2020).

O processo de entrada do SARS-CoV-2 ocorre, principalmente, pela fusão direta do envelope viral com a membrana plasmática da célula hospedeira ou pela fusão da membrana dentro do endossoma pós endocitose. Em ambos os casos a entrada viral é iniciada pela ligação do RBD (*receptor binding domain*), presente na subunidade S1 da proteína *spike*, aos receptores da célula hospedeira, sendo na maioria dos casos o ACE2. Após a interação do RBD com o receptor celular, a proteína *spike* sofre uma clivagem proteolítica no limite entre as subunidades S1 e S2, que é catalisada por proteases do hospedeiro, como a Furina, uma proteína transmembranar do tipo I. Com a primeira clivagem, a restrição estrutural de S1 em S2 é removida, e os processos de endocitose ou fusão de membranas podem acontecer normalmente (JACKSON et al., 2022; ZHANG et al., 2021).

Na entrada viral mediada por fusão de membranas plasmática e viral, a enzima protease serina transmembranar 2 (TMPRSS2) é usada para clivar uma região discreta na subunidade S2, chamada de S2'local. Após os processos da enzima TMPRSS2, um peptídeo de fusão interno de S2 é liberado, e esta região sofre mudanças conformacionais que permitem a aproximação entre as membranas virais e plasmáticas promovendo o processo de fusão, seguido da liberação do material genético viral no citoplasma. Já no processo de entrada viral mediado pela fusão de membrana endossomal, a partícula viral é endocitada, após a liberação da subunidade S2. Dentro da partícula endossomal, a região S2'local é clivada por uma protease lisossômica, a Catepsina L (CTSL). Esta protease é responsável por clivar a região e induzir mudanças conformacionais na subunidade S2, liberando o seu peptídeo de fusão. Por fim, a membrana endossomal se funde à membrana viral, com o auxílio da subunidade S2, e o genoma do patógeno é liberado no citoplasma (Figura 2) (ZHANG et al., 2021).

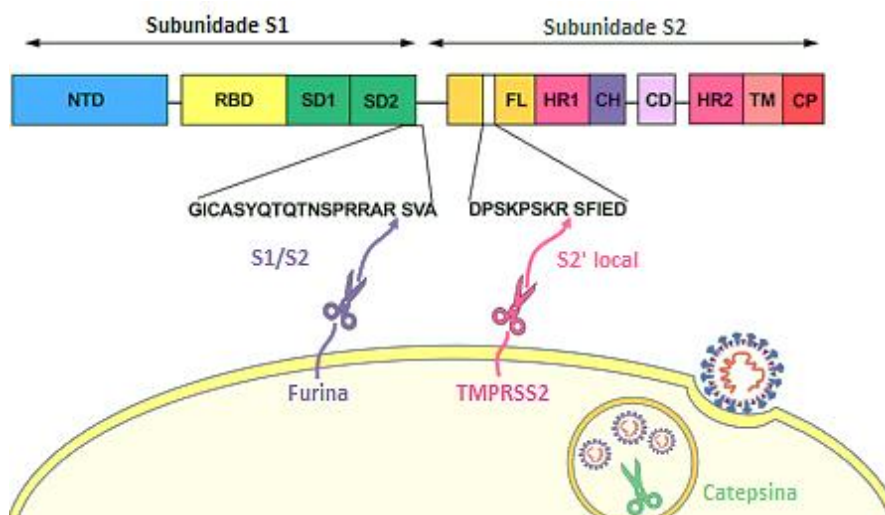


Figura 2. Três categorias de proteases necessárias para a entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira. Convertases de pró-proteína (por exemplo, furina), proteases de superfície celular (por exemplo, TMPRSS2) e proteases lisossômicas (por exemplo, catepsina) participam da proteólise da proteína SARS-CoV-2 S. A furina cliva o sítio multibásico (PRRA) no limite S1/S2. TMPRSS2 cliva o S2' local. As catepsinas, localizadas principalmente no lisossomo, induzem a proteólise após a endocitose do vírion. Diferentes domínios da proteína S (da esquerda para a direita): domínio N-terminal (NTD), domínio de ligação ao receptor (RBD), subdomínio 1 (SD1), subdomínio 2 (SD2), alça de fusão (FL), repetição heptad 1 (HR1), hélice central (CH), domínio do conector (CD), repetição heptad 2 (HR2), região transmembranar (TM), domínio da cauda citoplasmática (CP) (adaptado de ZHANG et al., 2021).

Após o desnudamento, o SARS-CoV-2 libera seu material genético no citoplasma, onde é traduzido nas poliproteínas da replicase viral p1a e p1ab. Essas proteínas são clivadas por proteinases virais para formar proteínas não estruturais funcionais (NSPs), como uma helicase (Hel) e a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), que é responsável pela replicação da proteína estrutural do RNA. O genoma de cadeia positiva do SARS-CoV-2 é usado para sintetizar fitas de sentido negativo que servem como molde para a síntese de mRNA. As proteínas estruturais S1, S2, E e M são então traduzidas por ribossomos que estão ligados ao retículo endoplasmático (RE). Os nucleocapsídeos virais são montados a partir do RNA genômico, seguido de brotamento no lúmen do retículo endoplasmático que se fundem com o precursor do vírion. Os vírions formados são então transportados do RE através do aparelho de Golgi para a superfície celular, através de pequenas vesículas e liberados da célula por exocitose (BCHETNIA et al., 2020; STERTZ et al., 2007).

A RNA polimerase dependente de RNA, codificada pela nsp12 da ORF1b, possui uma atividade revisora que reduz a taxa de erro da polimerase, permitindo que o genoma do vírus seja longo, e os processos de replicação e transcrição possuam uma maior fidelidade quando comparado a outros vírus de RNA. Apesar da baixa taxa de erros da RdRp do SARS-CoV-2, ele ainda apresenta uma taxa de mutação em torno de 10^{-4} substituições de nucleotídeos por nucleotídeo por ano. Esse valor é alto quando comparado com vírus de RNA que não possuem atividade revisora, como exemplo os flavivírus ou mesmo arbovírus. Isso ocorre devido a sua alta taxa de transmissibilidade e, conseqüentemente, a rápida disseminação e transmissão do vírus. Esses fatores oferecem oportunidades substanciais para que ele se diversifique, dando origem a novas variantes (CHEN et al., 2020; HILLEN, 2021; LU et al., 2020; SANJUÁN et al., 2010).

1.3 Variantes virais

Mutações são eventos naturais da replicação viral, que ocorrem de maneira aleatória e neutra, ou seja, não fornecem, na maioria das vezes, qualquer vantagem ou desvantagem para

o microrganismo (HARVEY et al., 2021). No entanto, um pequeno número de mutações pode conferir importantes modificações estruturais que levam ao surgimento de variantes específicas, que podem aumentar a eficiência dos processos que antecedem e sucedem a infecção viral. Alguns vírus de RNA, por exemplo, apresentam taxas de mutações mais altas, por não apresentarem uma atividade de revisão nas enzimas RNA polimerase dependentes de RNA, e por isso podem estar mais propensos ao aparecimento de variantes específicas (GRUBAUGH; PETRONE; HOLMES, 2020).

Embora o SARS-CoV-2 demonstre uma taxa de mutação mais baixa em relação aos outros vírus de RNA, como influenza e o vírus da imunodeficiência humana (HIV), ele ainda possui um número significativo de mutações. Cerca de 12.800 já foram identificadas em todo o mundo, sendo estas responsáveis pelo aparecimento das variantes que causaram grande preocupação (PAPANIKOLAOU et al., 2022; WINGER; CASPARI, 2021). As variantes do SARS-CoV-2 são definidas a partir de alguns critérios estabelecidos, sendo eles: ter uma ou mais diferenças de nucleotídeos compartilhadas com a linhagem ancestral; ter cinco ou mais amostras com no mínimo 95% do genoma viral sequenciado; dentro da linhagem os genomas devem exibir pelo menos uma mudança de nucleotídeo compartilhada; o valor de *bootstrap* para o nó definidor da linhagem deve ser acima de 70% (RAMBAUT et al., 2020).

A partir desses critérios a OMS detectou um vasto número de variantes genômicas do SARS-CoV-2, desde o início da pandemia, em dezembro de 2019. As variantes descobertas, que apresentaram um risco elevado para a saúde global, foram nomeadas de acordo com o alfabeto grego (Alfa a Ômicron), e foram classificadas de acordo com o seu potencial de transmissibilidade e virulência, em variantes de interesse (VOIs), variantes de preocupação (VOCs) e variantes sob monitoramento (VUMs) (RESENDE et al., 2021b; WHO, 2021).

As VOIs são aquelas cujas alterações genéticas alteram atributos epidemiológicos como transmissibilidade, severidade, escape imunológico, entre outros; e são causadoras de transmissões comunitárias ou múltiplos casos em vários países com número de casos crescente. As VOCs são variantes que além de atenderem à definição de VOIs, também estão associadas com a alteração prejudicial na epidemiologia, alteração clínica da doença e/ou diminuição da eficácia das medidas de prevenção, vacinas e diagnósticos. Já as VUMs são variantes com alterações genéticas suspeitas de afetar características virais e podem representar um risco futuro, mas exigem um maior monitoramento e avaliação das evidências (CHOI; SMITH, 2021; WHO, 2021).

Até o momento cinco variantes virais, que surgiram em diferentes países, foram classificadas como VOCs. A primeira variante a entrar nesta classificação foi notificada em

dezembro de 2020, no Reino Unido. A variante Alfa (B.1.1.7), que possuía cerca de 22 mutações, se espalhou por toda a região onde se originou e atingiu países de outros continentes, como os Estados Unidos. Porém, no Brasil a variante não gerou um número crescente de casos e foi logo substituída (CLARO et al., 2021; VOLZ et al., 2021). Ainda em dezembro de 2020 a variante Beta (B.1.351) surgiu na África do Sul e demonstrou mutações semelhantes às encontradas na variante anterior (SLAVOV et al., 2021a; TEGALLY et al., 2021).

Em janeiro de 2021, a variante Gama (P.1), também classificada como VOC, surgiu no Brasil e se espalhou por todo o território nacional, gerando uma enorme onda de casos, principalmente, no Amazonas, onde foi notificada pela primeira vez. A variante apresentava mutações semelhantes à Beta, porém, mais transmissível (FARIA et al., 2021; NAVECA et al., 2021). Por sua vez, a variante Delta (B.1.617.2) emergiu em maio de 2021, na Índia e modificou todo o cenário epidemiológico, se tornando predominante no Brasil e em vários outros países pelo mundo (CHERIAN et al., 2021; SILVA et al., 2022b; TIAN; SUN; YE, 2021).

A última variante detectada e classificada como VOC foi a variante Ômicron (B.1.1.529), que surgiu em novembro de 2021, na África do Sul. Mais de 30 mutações no gene *spike* diferenciam a Ômicron das demais variantes (Alfa, Gama e Delta), o que levantou preocupações relacionadas à maior infectividade e potencial fuga imune logo após o seu aparecimento. Em menos de dois meses as suspeitas foram comprovadas, e a Ômicron dominou o cenário epidemiológico mundial, provocando um aumento significativo nos números de casos de COVID-19. Nas primeiras três semanas a VOC já havia sido identificada em 87 países e em janeiro de 2022 mais de 100.000 amostras da variante já tinham seus genomas sequenciados e depositados em bancos de dados. No Brasil, a variante que se mostrou extremamente transmissível, causou um novo pico de infecções, interrompendo um período de queda no número de casos e mortes (ADAMOSKI et al., 2022; VIANA et al., 2022).

Diferente das demais variantes, a disseminação da Ômicron ocorreu em um cenário de alta imunização mediada pelas vacinas. No entanto, a variante apresentou um perfil de mutação específico, na região da proteína *spike*, que lhe conferiu maior evasão imune das vacinas de SARS-CoV-2. Além disso, a variante Ômicron surgiu em um período de flexibilização das medidas de restrição e distanciamento, férias escolares e festividades de fim de ano, o que contribuiu substancialmente para a sua rápida disseminação. Apesar do significativo número de infectados e sua disseminação global, essa variante não elevou os números de casos graves e óbitos (CUI et al., 2022; MCCALLUM et al., 2022; SLAVOV et al., 2022).

Uma linhagem viral é um conjunto de variações genômicas intimamente relacionadas que compartilham um ancestral comum, e estas podem então se ramificar em sublinhagens.

Recentemente, a vigilância contínua da evolução do SARS-CoV-2 revelou que a variante Ômicron apresentou algumas sublinhagens, ou subvariantes, que se tornaram dominantes no cenário epidemiológico da pandemia. Já no início de 2022, 4 subvariantes foram detectadas, sendo identificadas como BA.1, BA.1.1, BA.2 e BA.3, sendo a BA.3 a menos prevalente (ALCANTARA et al., 2022; KUMAR; KARUPPANAN; SUBRAMANIAM, 2022; TAKASHITA et al., 2022).

A subvariante BA.1 apresenta mais de 60 mutações não-sinônimas quando comparada com o vírus original de Wuhan, e dessas, mais de 30 encontram-se na proteína *spike* e estão envolvidas com a transmissibilidade, gravidade da doença e escape imunológico (HE et al., 2021). Entre essas alterações, oito estão localizadas no domínio N-terminal (NTD) e 15 no domínio de ligação do receptor (RBD). Já a subvariante BA.2 apresenta 16 mutações no RBD da *spike*, 12 delas são idênticas às encontradas na subvariante anterior, entretanto várias mutações as diferenciam (Figura 3) e tornam a BA.2 ainda mais transmissível do que a BA.1 (TAKASHITA et al., 2022). Além disso, uma das principais mutações utilizadas para diferenciar essas subvariantes é a deleção na posição 69/70 da proteína *spike*, presente somente na BA.1 (HU et al., 2022).

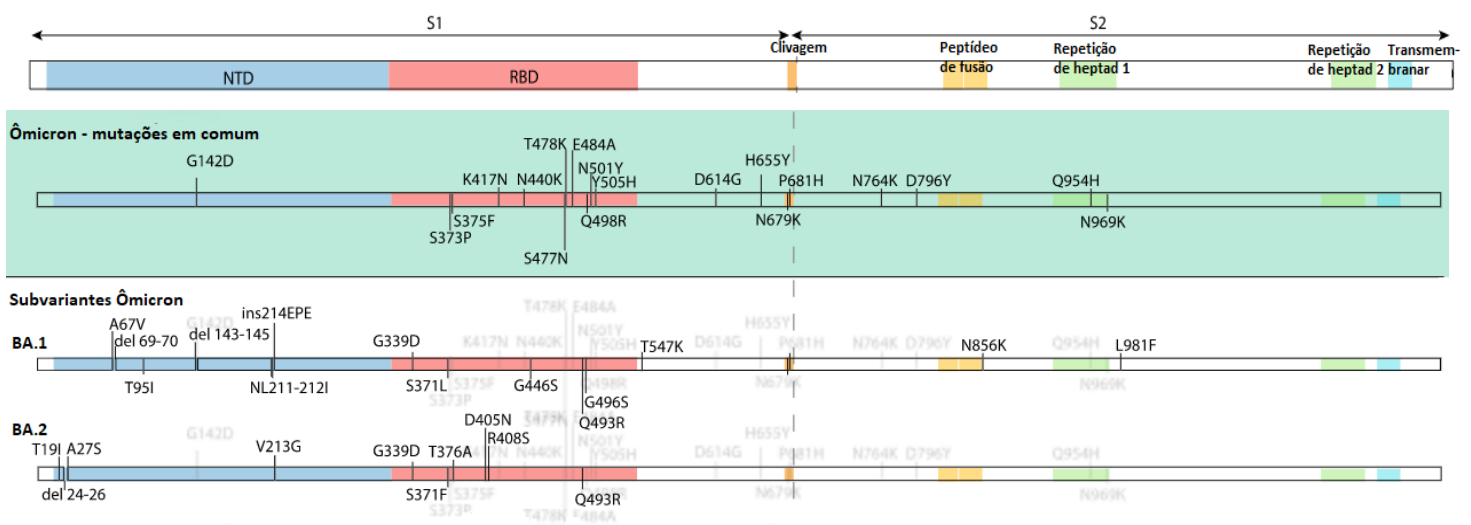


Figura 3. Representação esquemática da região genômica da proteína *spike* do vírus SARS-CoV-2. Inclui em azul NTD, em rosa RBD, ponto de clivagem (entre as subunidades S1 e S2), em amarelo peptídeo de fusão, em verde repetições de heptad 1 e 2, e em azul transmembranar. Regiões de mutações em comum das subvariantes da Ômicron (G142D, S373P, S375F, K417N, N440K, S477N, T478K, E484A, N501Y, Y505H, Q498R, D614G, H655Y, P681H, N679K, N764K, D796Y, Q954K, N969K). Mutações específicas na região genômica *spike* das subvariantes BA.1 (A67V, del69-70, T95I, del143-145, ins214EPE, NL211-212I, G339D, S371L, G446S, G496S, Q493R, T547K, N856K, L981F) e BA.2 (T19I, A27S, del24-26, V213G, G339D, S371F, T376A, D405N, R408S, Q493R) (adaptado de VIRALZONE, 2022).

1.4 COVID-19 em Minas Gerais, Brasil

O estado de Minas Gerais (MG), localizado na região sudeste do Brasil, possui a

segunda maior população do país, com mais de 20.000.000 habitantes, além da quarta maior extensão territorial. Possui um trânsito contínuo de pessoas e transporte, está conectado com três regiões diferentes do país e faz fronteira com os principais polos econômicos do Brasil: São Paulo e Rio de Janeiro. Devido à sua extensa área territorial e disparidade socioeconômica entre regiões, MG enfrentou desafios semelhantes aos nacionais no combate à pandemia de COVID-19. O primeiro caso de infecção pelo vírus SARS-CoV-2 no estado foi notificado no dia oito de março de 2020, sendo o 25º caso no país (DE PAULA-JÚNIOR et al., 2021; DONG; DU; GARDNER, 2020; FONSECA et al., 2022).

Logo após o primeiro caso no estado, em 15 de março de 2020, foi instalado o comitê responsável pelo delineamento das medidas para o enfrentamento da pandemia e acompanhamento do quadro epidemiológico da doença. Na mesma semana, com a confirmação da transmissão comunitária, foi decretado estado de calamidade pública (Decreto nº 47.891, de 20/03/2020), e o governo estadual passou a tomar medidas institucionais mais rigorosas. Entre as principais medidas adotadas, destacam-se a suspensão das atividades não essenciais e de aulas presenciais, o uso obrigatório de máscara em locais públicos e restrição de mobilidade intermunicipal. Além disso, uma rede de vigilância genômica foi instalada no estado para o monitoramento em tempo real de variantes do vírus SARS-CoV-2 circulantes (ANDRADE et al., 2020; ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DE MINAS GERAIS, 2020).

O Observatório de Vigilância Genômica (OViGen) é uma iniciativa de vigilância genômica que monitora em tempo real as VOCs e VOIs já descritas, e detecta novas variantes de maneira rápida, associando a metodologia de genotipagem desenvolvida pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e o sequenciamento genômico viral. O monitoramento é realizado semanalmente, através de amostras provenientes de cidades de Minas Gerais. Além disso, todas as variantes de SARS-CoV-2 caracterizadas, de acordo com a região geográfica do estado, são comunicadas através de informes ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI), Ministério da Saúde (MS), Secretaria Estadual de Saúde e Prefeituras para ações de vigilância em saúde e controle da transmissão (PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA ICB/UFMG, 2021).

O OViGenMG é composto por membros da Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Laboratório de Biologia Integrativa da Universidade Federal de Minas Gerais (LBI-UFMG), Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico da UFMG (NUPAD-UFMG), CT vacinas (UFMG), Laboratório Institucional de Pesquisa em Biomarcadores (LINBIO-UFMG), Grupo Hermes Pardini e da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES-MG). O OViGenMG conta com financiamento dos Laboratórios de Campanha e Rede Corona-ômica-MCTI (Rede

Vírus-MCTI), Cooperativa de Laboratórios da UFMG (Coolabs) e da FUNED (PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA ICB/UFMG, 2021).

No entanto, as medidas adotadas não impediram o alastramento da pandemia de forma descontrolada, e MG apresentou altas taxas de transmissibilidade e subnotificação, desde o início da pandemia, além de uma distribuição do número de casos homogênea por todo o território. Desta forma, MG foi rapidamente dominada pelo vírus, se tornando o terceiro estado que mais sofreu com os efeitos da pandemia. Em 2022, com a introdução e disseminação da variante Ômicron, um novo pico de infecções ocorreu e MG bateu o recorde de infecções em 24 horas, somando 36.383 casos no dia 26 de janeiro. Segundo a Secretaria de Saúde do Estado, neste dia, cerca de 1.515 novas infecções ocorriam a cada hora. Atualmente o estado possui mais de 4.209.000 casos confirmados da doença e mais de 65.740 mortes causadas por ela (DONG; DU; GARDNER, 2020; SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS, 2022).

1.5 Ondas epidêmicas

A dinâmica da epidemia no estado de Minas Gerais, assim como no Brasil, tem se caracterizado por três grandes ondas epidêmicas, que são definidas como um aumento progressivo do número de casos, gerando novos cenários epidemiológicos. O aparecimento de ondas, ou picos de infecções, estão diretamente relacionados com o surgimento de novas variantes que conferem algum tipo de vantagem seletiva ao microrganismo, como o aumento na transmissibilidade, virulência ou até mesmo uma maior capacidade de evadir o sistema imunológico (ALCÂNTARA et al., 2022; EL-SHABASY et al., 2022; SLAVOV et al., 2021b; XAVIER et al., 2020).

A primeira onda de casos no estado ocorreu entre fevereiro de 2020 a novembro do mesmo ano, entre a 9^a até a 45^a semana epidemiológica (SE), somando um total de 37 semanas. Esta onda foi caracterizada pela co-circulação das primeiras variantes e suas diferentes linhagens (B.1.1.28 e B.1.1.33) devido a múltiplos eventos de introdução ocorrendo ao longo do tempo no país. Segundo a Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES-MG), neste período, cerca de 366.193 casos e 9.969 óbitos foram notificados (ANDR ZEISER et al., 2022; CANDIDO et al., 2020; MOURA et al., 2021; SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS, 2020).

A segunda onda epidêmica ocorreu entre dezembro de 2020 (a partir da 46^a SE) até meados de abril de 2021, e foi alimentada pelo surgimento e circulação de variantes como a

VUM P.2, mas principalmente, pela VOC P.1 (Gama), logo após o seu aparecimento e introdução. A segunda onda se manifestou de forma rápida, gerando um aumento expressivo no número de casos e óbitos, em comparação com o primeiro evento, o que gerou um colapso nos sistemas de saúde do país. Neste período, a SES-MG identificou cerca de 904.775 casos e 25.102 mortes no estado (ANDR ZEISER et al., 2022; GIOVANETTI et al., 2021; SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS, 2021a; TOSTA et al., 2021).

O aparecimento da variante Delta (B.1.617.2), em abril de 2021, ocorreu em um contexto de altas taxas de imunização (tanto natural quanto vacinal), o que culminou para o não aparecimento de uma nova onda de casos de COVID-19. Assim, sua introdução não levou a um crescimento substancial no número de novos casos e até o final de 2021 o país registrou o menor número de novos casos e mortes até então. Estas circunstâncias contribuíram para o abrandamento das políticas de prevenção gerando um ambiente favorável para a rápida disseminação da variante de preocupação Ômicron (FONSECA et al., 2022; GIOVANETTI et al., 2022).

O aparecimento da VOC Ômicron, em dezembro de 2021, impulsionou uma terceira onda de casos de SARS-CoV-2 e mortes em MG, como fez rapidamente no Brasil, e em todo o mundo. A sua rápida disseminação e o decorrente aumento no número de casos está diretamente relacionada com um maior número de mutações que permite uma evasão mais eficiente do sistema imunológico, assim como uma maior transmissibilidade. Além disso, a identificação das sublinhagens da Ômicron (BA.1 e BA.2) gerou preocupação quanto ao seu potencial impacto nos sistemas de saúde nacionais e internacionais. Apesar disso, observou-se que a onda causada pela variante Ômicron teve um pico extremamente acentuado, que não foi visto em nenhuma onda anterior, e um declínio igualmente rápido, o que reflete o impacto bem-sucedido do programa de vacinação, juntamente com a capacidade desse vírus altamente transmissível de afetar rapidamente a proporção da população suscetível (ALCÂNTARA et al., 2022; SLAVOV et al., 2022).

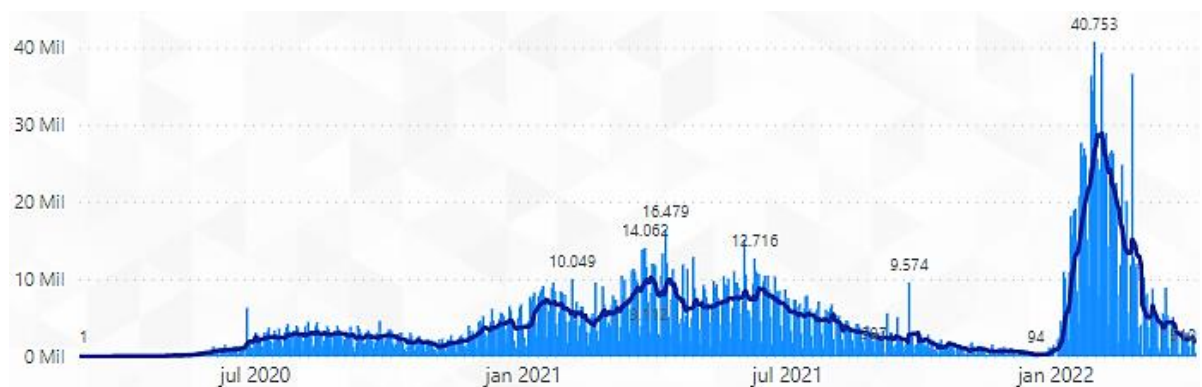


Figura 4. Representação gráfica do número de casos confirmados, por dia, no estado de Minas Gerais, de julho de 2020 a janeiro de 2022. Em azul claro, os casos notificados, e em azul escuro, a média móvel de casos confirmados (em 7 dias). O estado enfrentou três grandes ondas epidêmicas, causadas por diferentes VOCs, entre fevereiro a novembro de 2020 (1ª onda), novembro de 2020 a abril de 2021 (2ª onda) e dezembro de 2021 a abril de 2022 (3ª onda). A terceira onda, representada pelo pico de casos em janeiro de 2022, apresentou um número de casos simultâneos nunca visto antes no estado (adaptado de SECRETARIA DE SAÚDE DE ESTADO DE MINAS GERAIS, 2023).

1.6 Vigilância genômica

A vigilância genômica é um processo, que utiliza técnicas de biologia molecular e bioinformática, para monitorar as variantes de um patógeno em circulação. É utilizada para a detecção antecipada de surtos epidêmicos, determinação da variação genética de uma população de patógenos, melhoramento do design de vacinas e superação do problema da resistência à antibióticos causada por bactérias. A vigilância pode ser realizada através da combinação de técnicas que utilizam marcadores genômicos específicos para detectar variações, ou através de outras ciências ômicas. A combinação dessas técnicas possibilita a identificação de alterações na sequência genômica do patógeno, que tenham o potencial de alterar as características epidemiológicas e clínicas, como as taxas de dispersão, resistência e mortalidade (CHAN; RABADAN, 2013; SINTCHENKO; IREDELL; GILBERT, 2007).

No contexto da epidemiologia, a vigilância genômica tem emergido como uma ferramenta que integra dados genômicos com dados clínicos, de mobilidade e transmissibilidade para modelar padrões de evolução e dispersão geográfica de agentes etiológicos de interesse, como é o caso das arboviroses endêmicas do Brasil. Antes da pandemia de COVID-19 uma rede de vigilância genômica já havia sido criada no país, para doenças endêmicas como Dengue, Zika e Chikungunya. A utilização desta rede contribuiu para a quantidade de dados genéticos disponíveis em bancos de dados públicos, assim como para o entendimento da evolução molecular, disseminação e persistência de tais vírus, tornando o país líder mundial em vigilância de arboviroses (FARIA et al., 2016). Além disso, a partir dos dados de monitoramento foi possível traçar estratégias para tentar diminuir a transmissão dos patógenos e a proliferação de seus vetores (ADELINO et al., 2021; NAVECA et al., 2018).

Desde o seu surgimento, o vírus SARS-CoV-2 demonstrou uma capacidade considerável de transmissão e infecciosidade, se tornando um problema de escala global em menos de três meses. Milhares de mutações e alterações que podiam fornecer ao vírus uma vantagem seletiva, contribuindo para aumentar ainda mais a transmissibilidade e a capacidade de evadir a resposta imune do hospedeiro, apareceram rapidamente. A partir disso, ficou claro a necessidade de medidas de monitoramento de disseminação e perfil genômico, como a

vigilância genômica, principalmente em países que foram severamente atingidos pela doença, como o Brasil. Atualmente a vigilância genômica do SARS-CoV-2 concentra-se amplamente nas mutações da glicoproteína S, que tem um papel fundamental na entrada de células hospedeiras e é o principal alvo dos anticorpos neutralizantes (DOS SANTOS et al., 2021; LAMARCA et al., 2021).

Tendo em vista o grande número de alterações genômicas na variante Ômicron, a OMS criou uma categoria no seu sistema de rastreamento das variantes, chamado “subvariantes Ômicron sob monitoramento”, que visa investigar o possível impacto de novas subvariantes na saúde pública global e sinalizar possíveis ameaças para as autoridades de saúde pública. As variantes presentes nesse grupo devem pertencer ao grupo da VOC atual em circulação, mostrar sinais de vantagem de transmissão em comparação com as outras subvariantes e ter alterações de aminoácidos adicionais que são conhecidas ou suspeitas de conferir alteração na epidemiologia e vantagem adaptativas quando comparadas com outras subvariantes circulantes. Desta forma, em janeiro de 2022 duas subvariantes já se enquadravam nesta categoria, sendo elas BA.1 e BA.2 (KUMAR; KARUPPANAN; SUBRAMANIAM, 2022; WHO, 2022).

Como mencionado anteriormente, Minas Gerais é um dos estados mais populosos do país, com um grande fluxo migratório, uma extensa área territorial, e uma forte conexão com os principais polos econômicos. A soma desses fatores fez com que o estado se tornasse um dos mais vulneráveis à pandemia de COVID-19, do ponto de vista epidemiológico. Desta forma, desde 2021 MG conta com a ajuda do Observatório de Vigilância Genômica (OViGen), que monitora em tempo real as linhagens circulantes do vírus SARS-CoV-2, e auxilia no enfrentamento da pandemia. Minas Gerais passou por desafios semelhantes aos nacionais nocombate ao vírus, enfrentando três grandes ondas epidêmicas, causadas por diferentes variantes, e que foram acompanhadas pelo Ovigen (DE PAULA-JÚNIOR et al., 2021; FONSECA et al., 2022).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Monitorar o surgimento e evolução das subvariantes da Ômicron no estado de Minas Gerais durante a terceira onda epidêmica.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a relação entre a frequência das variantes e a curva epidêmica;
- Estimar a prevalência e distribuição das subvariantes da Ômicron no estado durante o período de estudo;
- Estabelecer as relações filogenéticas entre as subvariantes da Ômicron em circulação no estado.

3 METODOLOGIA

3.1 Desenho experimental

Para monitorar o desenvolvimento e a distribuição da VOC Ômicron durante a terceira onda de casos no estado de Minas Gerais, realizamos um estudo de base populacional, juntamente com um processo de vigilância genômica, em 15 Gerências Regionais de Saúde (GRS) do estado (Figura 5). Durante 25 semanas epidemiológicas (semana 41 de 2021 a semana 13 de 2022), entre o período de 10 de outubro de 2021 e 2 de abril de 2022, recebemos amostras positivas para o vírus, provenientes das GRSs selecionadas. As GRSs foram incluídas com base na sua localização geográfica no estado e/ou sua grande população e fluxo de transporte. Inicialmente, 20 amostras de *swab* nasal seriam recebidas semanalmente de cada GRS, no entanto, o número amostral variou substancialmente em determinadas semanas e regionais, devido a indisponibilidade de amostras.

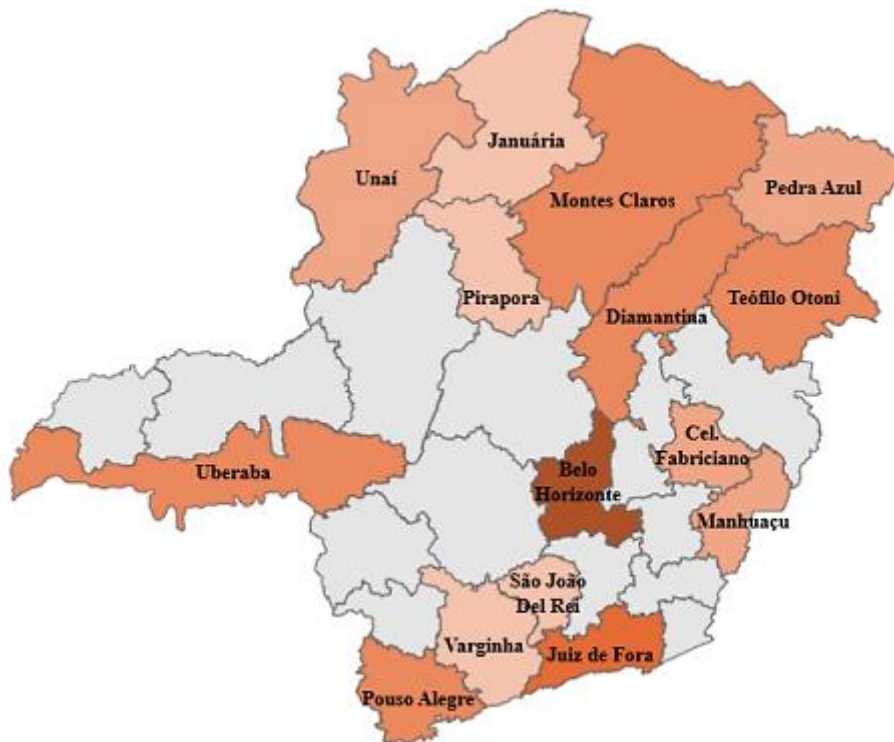


Figura 5. Gerências Regionais de Saúde de Minas Gerais selecionadas para o estudo. Em vermelho, Belo Horizonte, Coronel Fabriciano, Diamantina, Januária, Juiz de Fora, Manhuaçu, Montes Claros, Pedra Azul, Pirapora, Pouso Alegre, São João Del Rei, Teófilo Otoni, Uberaba, Unai e Varginha.

O monitoramento realizado neste estudo ocorreu a partir do Observatório de Vigilância Genômica de Minas Gerais (OViGenMG). Uma iniciativa de vigilância genômica com o objetivo de monitorar as variantes do SARS-CoV-2 no estado de Minas Gerais.

A Fundação Ezequiel Dias (FUNED) esteve responsável por selecionar, através de testes de diagnóstico, as amostras de *swab* nasal das GRS que fossem positivas para o vírus SARS-CoV-2 e possuíssem um CT de amplificação <30, e encaminhá-las para o LBI. O CT é definido como o ciclo que intersecta o limiar de detecção da fluorescência durante a reação de RT-qPCR, e a métrica está negativamente correlacionada à carga viral presente. O valor abaixo de 30 garante uma quantidade suficiente de carga viral na amostra, para que testes como genotipagem e sequenciamento possam ser feitos com maior qualidade.

3.2 Extração e purificação do material genético

Dentre as amostras enviadas pelas GRS, somente as de Juiz de Fora foram enviadas em sua forma bruta da FUNED para o LBI, necessitando passar pelo processo de extração e purificação do material genético viral.

Desta forma, 138 amostras, foram extraídas de acordo com o protocolo especificado pelo kit PureLink™ RNA Mini Kit - ambion. O protocolo consiste em um fluxo de trabalho de 5 passos: 1. lise celular; 2. precipitação; 3. ligação; 4. lavagem e 5. eluição. Segundo o protocolo, antes da realização dos processos é necessário a preparação de alguns reagentes. Desta forma, foram adicionados 60 mL de etanol a 96–100% diretamente no frasco do reagente Wash Buffer II, e 10 µL de 2–mercaptoetanol (para cada 1 mL) no Tampão de lise.

Conforme descrito pelo fabricante, foram adicionados 100 µL de amostra, 100 µL de tampão de lise e 100 µL de etanol 96-100%. Em seguida, todo o conteúdo foi transferido para um cartucho giratório (com um tubo de coleta), e centrifugado a 12.000 ×g por 15 segundos em temperatura ambiente. Após a centrifugação e o descarte do material presente no tubo de coleta, foram adicionados 700 µL de Wash Buffer I ao cartucho giratório. Novamente o material foi centrifugado a 12.000 ×g por 15 segundos em temperatura ambiente. O cartucho giratório foi inserido em um novo tubo de coleta, onde foram adicionados 500 µL Wash Buffer II com etanol. Novamente, o cartucho foi centrifugado nas mesmas condições.

A etapa de adição do reagente Wash Buffer II e posterior centrifugação foram realizadas duas vezes, segundo as orientações do fabricante. Em seguida o cartucho giratório foi retirado do tubo coletor e inserido em um tubo de recuperação. Para a eluição foram adicionados 30 µL de água livre de RNase ao centro do cartucho giratório. O cartucho foi centrifugado a 12.000 ×g por 1 minuto em temperatura ambiente. Por fim, O RNA extraído e purificado presente no tubo de recuperação foi armazenado em um *ultrafreezer* a temperatura de -80°C.

3.3 Genotipagem

Durante todo o período avaliado, foram identificadas 2561 amostras positivas para SARS-CoV-2, as quais foram submetidas à genotipagem por RT-qPCR utilizando o kit 4Plex SC2/VOC Bio-Manguinhos (Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Esse kit contém primers para os polimorfismos DelH69 e V70 no gene *Spike*, permitindo distinguir entre as subvariantes Ômicron BA.1/3/4/5 (mutantes) e BA.2 (selvagem). Além disso, foram utilizados primers para o alvo viral N1, que possibilitou a avaliação da qualidade e da carga viral das amostras. Para a realização da análise, foram adicionados 2,2 µL da Mistura de PCR e 2,8 µL do Mix SC2/VOC à temperatura ambiente, resultando em um volume de 5 µL. As amostras foram analisadas em placas de 96 poços, utilizando o termociclador CFX Opus 96 Real-Time PCR System, seguindo as etapas de transcrição reversa a 50°C por 15 minutos, inativação da transcriptase reversa e ativação da DNA polimerase a 95°C por 2 minutos, desnaturação (95°C por 20 segundos) e anelamento e extensão (61°C por 30 segundos), em 40 ciclos.

Posteriormente, foi realizada uma segunda genotipagem com primers para a mutação do gene S L452R, a partir do TaqMan SARS-CoV-2 Mutation Panel (Thermo Fisher, Waltham, MA, EUA), e reagentes do kit iTaq Universal Probes One-Step (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). Deste kit foram adicionados 5 µL de Master mix, 0,5 µL de Transcriptase reversa e 0,25 µL de primer à temperatura ambiente, resultando em um volume total de 5,5 µL. Essas amostras também foram analisadas em placas de 96 poços, utilizando o termociclador CFX Opus 96 Real-Time PCR System, porém seguindo as etapas de transcrição reversa a 50°C por 10 minutos, inativação da transcriptase reversa e ativação da DNA polimerase a 95°C por 2 minutos, desnaturação (95°C por 15 segundos) e anelamento e extensão (60°C por 50 segundos), em 40 ciclos. As amostras com perfil selvagem para a Del69/70 foram classificadas como Ômicron BA.2, enquanto as amostras mutantes para a mesma deleção foram classificadas como BA.1.

Ambas as subvariantes demonstram um padrão selvagem para a mutação na posição L452R. Os primers para a região L452R foram utilizados durante o período inicial do estudo, quando ainda havia variantes Delta, mutantes para essa região, circulando no estado. As amostras que não amplificaram o alvo viral ou tiveram um $Ct \geq 40$ foram submetidas a repetições e, em caso de persistência do resultado, foram excluídas do estudo. Como resultado, um total de 26 amostras foram excluídas do estudo.

3.4 Sequenciamento

Como a frequência das variantes foi estimada e monitorada a partir de um número mais significativo de amostras por meio de genotipagem, decidimos sequenciar 162 amostras de todas as GRS, que foram selecionadas de acordo com o CT (<28) e com a distribuição entre as SEs. Desta forma, para o sequenciamento, todas as bibliotecas foram montadas usando o QIAseq SARS-CoV-2 Primer Panel – QIAGEN, com os pools de primers ARTIC V4.1, quantificado pelo kit QIAseq Library Quant Assay - QIAGEN e sequenciado na plataforma MiSeq com cartuchos v3 (600x).

Os dados de sequenciamento passam por um *pipeline* personalizado e otimizado para montagem dos genomas virais. Primeiramente, os arquivos FASTQ provenientes do sequenciamento passaram por um filtro de qualidade, no qual sequências com baixa qualidade (Phred < 20) e com tamanho menor a 50 nucleotídeos foram removidas. Nessa etapa, também foram removidos os adaptadores pelo programa Trimmomatic v0.39. Para avaliar se todas as sequências de baixa qualidade, curtas e adaptadores foram removidos, o programa FASTQC (Disponível em: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>) foi usado para conferência. Em seguida, as sequências foram mapeadas contra o genoma de referência SARS-CoV-2 (acesso GenBank: NC_045512) através do Bowtie2, e sequências consenso foram geradas através do BEDtools e BCFtools (LI, 2011). As sequências que atingiram o esperado no que diz respeito aos parâmetros de qualidade do sequenciamento (cobertura maior ou igual a 70% do genoma e profundidade de no mínimo 20x das bases sequenciadas) foram classificadas usando as ferramentas Pangolin ou NextClade.

O alinhamento de sequências (ou genomas) foi realizado usando o programa Minimap2 e foi conferido manualmente para remover artefatos usando o programa Aliview. Árvores filogenéticas de Máxima Verossimilhança (ML) foram estimadas usando IQ-TREE sob o modelo de substituição de melhor ajuste indicado pelo aplicativo Model Finder implementado no IQ-TREE. A robustez da topologia da árvore foi determinada usando 1.000 réplicas de *bootstrap*, e a presença de sinal temporal foi avaliada com o programa TempEst através de uma regressão das distâncias genéticas raiz-ponta em relação ao tempo de amostragem. Árvores filogenéticas em escala de tempo foram inferidas usando o pacote BEAST. O modelo de relógio molecular relaxado não correlacionado foi selecionado conforme indicado pela estimativa de probabilidades marginais.

4 RESULTADOS

Durante 25 semanas epidemiológicas (41 de 2021 a 13 de 2022), as 15 GRSs do estado de Minas Gerais enviaram um total de 2561 amostras positivas para o vírus SARS-CoV-2. Inicialmente, 20 amostras de cada GRS seriam enviadas semanalmente. No entanto, houve uma variação substancial no número de amostras durante este período, tanto entre as GRSs quanto entre as semanas epidemiológicas (Figura 6).

A GRS de Belo Horizonte foi a que mais enviou amostras, representando quase 31% do total recebido durante todo o estudo. Em contrapartida, outras regionais como Pouso Alegre, Pedra Azul e Unai enviaram juntas um número muito inferior, representando menos de 5% do total. Entre as semanas 41 e 52 de 2021, o número de amostras recebidas para vigilância genômica em Minas Gerais diminuiu e algumas semanas registraram quantidades significativamente menores do que o esperado, com o número de amostras sendo inferior a 50 em algumas delas.

A partir da primeira semana de 2022, houve um aumento significativo no número de amostras na maioria das SEs, ultrapassando a quantidade recebida no final de 2021. Além disso, nesse mesmo período, observou-se um aumento na quantidade de amostras enviadas por diversas regionais que, anteriormente, enviavam poucas ou quase nenhuma amostra, tais como Juiz de Fora, Uberaba, Manhuaçu, Coronel Fabriciano, Diamantina, Pedra Azul, Varginha, Januária e Teófilo Otoni.

	S41	S42	S43	S44	S45	S46	S47	S48	S49	S50	S51	S52	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	Total
Belo Horizonte	44	49	43	28	38	24	27	30	18	23	19	40	43	44	43	59	59	39	30	41	9	25	10	7	0	792
Juiz de Fora	1	7	9	3	4	2	3	0	0	1	0	0	19	11	20	20	20	13	0	3	1	1	0	0	0	138
Uberaba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	21	19	24	19	1	12	5	5	7	6	0	126
Pouso Alegre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	9	4	19	6	4	0	0	3	0	0	47
Montes Claros	22	17	20	0	19	11	17	5	2	1	0	0	1	19	12	20	27	9	0	13	7	2	6	0	0	230
Manhuaçu	3	5	2	0	0	0	1	1	1	3	0	1	6	1	23	19	18	23	17	15	0	7	3	0	0	149
Coronel Fabriciano	9	8	10	0	5	2	4	5	1	4	0	0	6	1	20	13	20	16	8	13	3	5	0	0	0	153
Diamantina	2	7	6	0	0	0	0	1	0	0	0	1	16	0	20	25	15	18	6	2	1	1	0	0	0	121
Pedra Azul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	3	11	4	1	0	0	0	0	23
Varginha	9	0	0	0	0	0	4	5	0	7	7	16	20	18	25	24	20	16	6	13	0	0	2	4	0	196
Unai	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	9	10	9	0	0	0	0	1	0	0	50
Sao Joao Del Rei	4	8	8	2	7	9	13	7	8	12	8	1	17	20	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	143
Januaria	10	5	10	3	2	4	2	1	4	1	1	3	12	20	21	20	20	20	19	8	4	1	3	0	2	196
Pirapora	6	8	15	0	5	1	1	1	0	0	0	0	0	0	14	19	6	13	2	1	0	1	3	0	2	98
Teofilo Otoni	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	18	17	15	11	13	0	1	6	1	1	99
Total	110	114	123	36	80	53	72	56	34	52	35	62	143	138	280	275	260	232	117	142	31	49	44	18	5	2561

Figura 6. Distribuição do número de amostras recebidas pelas 15 Gerências Regionais de Saúde selecionadas entre as semanas epidemiológicas 41 de 2021 a 13 de 2022.

Todas as 2561 amostras passaram pelo processo de genotipagem por RT-qPCR para identificação de mutações específicas. Entre elas, 753 foram classificadas como VOC Delta, 1782 como VOC Ômicron e 26 não apresentaram nenhum resultado. Realizaram-se duas tentativas para testar as amostras que não funcionaram, porém em nenhuma das tentativas foi possível detectar a presença de qualquer um dos alvos testados, incluindo os genes do alvo de nucleocapsídeo (N1), que são comumente usados para identificar e quantificar a quantidade de material genético viral presente na amostra.

Através das análises genotípicas realizadas (Figura 7), foi possível identificar a presença da variante Delta a partir da semana epidemiológica 41 de 2021 (primeira semana do estudo). No entanto, essa variante apresentou um declínio progressivo nas semanas seguintes, deixando de ser detectada em quase todas as GRSs já no início de 2022. Por outro lado, a variante Ômicron foi identificada pela primeira vez no estudo na semana epidemiológica 50 de 2021 e persistiu até o final da amostragem, em 2022.

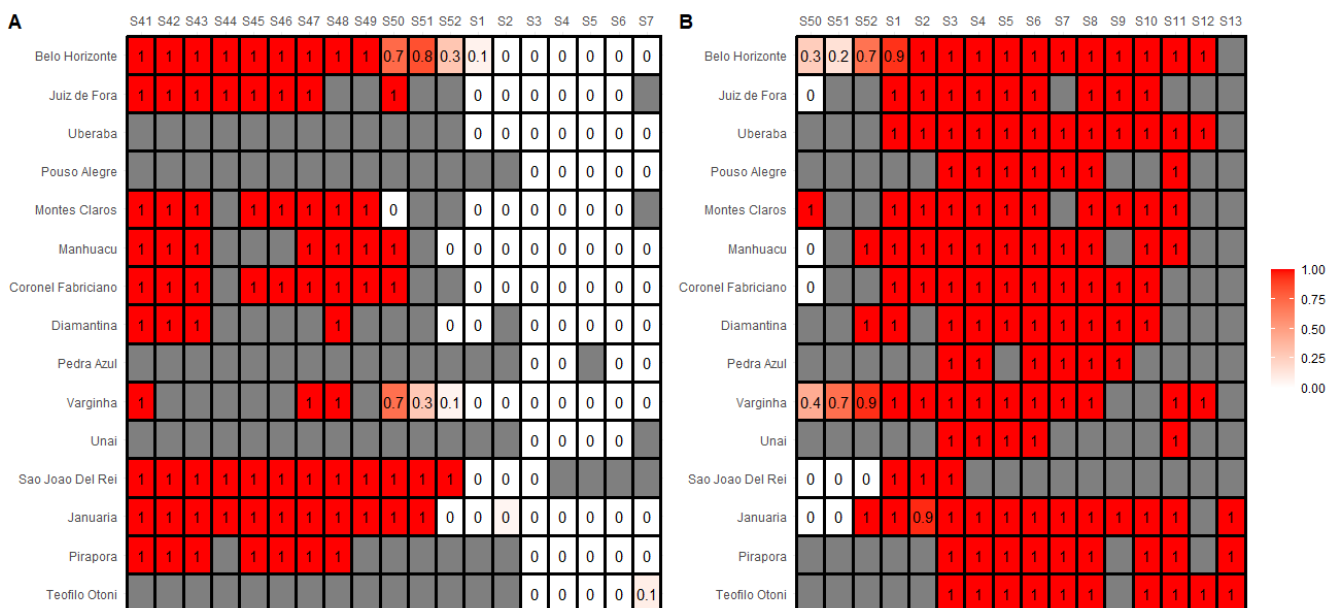


Figura 7. Distribuição e frequência das variantes do vírus SARS-CoV-2 detectadas pela metodologia de genotipagem por RT-qPCR nas GRS de Belo Horizonte, Juiz de Fora, Uberaba, Pouso Alegre, Montes Claros, Manhuaçu, Coronel Fabriciano, Diamantina, Pedra Azul, Varginha, Unaí, São João Del Rei, Januária, Pirapora e Teófilo Otoni, durante as semanas epidemiológicas 41 de 2021 a 13 de 2022. (A) frequência das amostras detectadas como variante Delta. (B) frequência das amostras detectadas como variante Ômicron. Os quadros cinzas representam as semanas sem amostragem naquelas GRSs.

Durante as semanas 41 a 49 de 2021, a variante Delta foi predominante, representando 100% das amostras analisadas. Na semana 50 de 2021, a variante Ômicron foi detectada pela primeira vez neste estudo. Entre as semanas 50 de 2021 e 1 de 2022, houve uma transição notável, com uma queda drástica no número de amostras caracterizadas como Delta e um aumento correspondente no número de variantes Ômicron. Esse padrão culminou na

substituição completa da variante Delta pela Ômicron. A partir das primeiras semanas de 2022 (SE 2), não foram mais detectadas amostras da variante Delta na grande maioria das GRSs, sendo a variante Ômicron predominando até a semana 13 de 2022 (última semana amostrada) (Figura 8).

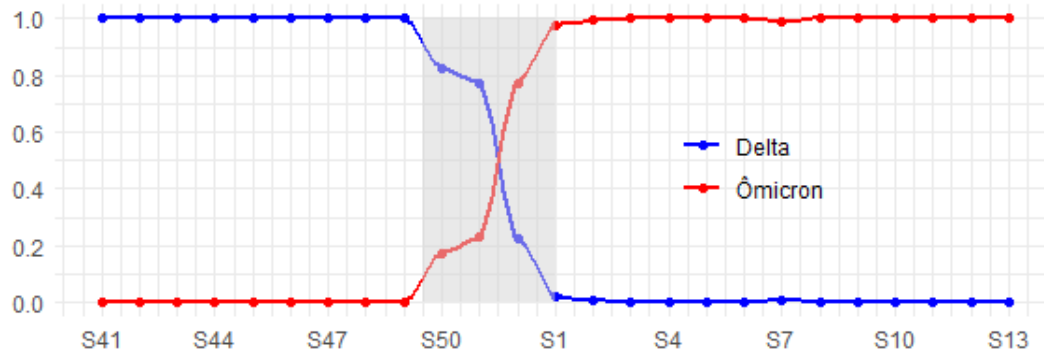


Figura 8. Frequência mediana das variantes Delta e Ômicron (e suas subvariantes) entre as semanas epidemiológicas 41 de 2021 e 13 de 2022. A linha em azul representa a frequência da variante Delta e a vermelha a frequência da variante Ômicron, durante o período do estudo.

Das amostras analisadas e classificadas como Ômicron neste estudo, 1735 foram identificadas como BA.1, enquanto 47 foram identificadas como BA.2. Para diferenciá-las, foi utilizada uma mutação específica, sendo que a subvariante BA.1 apresentou mutação para a deleção 69/70, enquanto a subvariante BA.2 foi identificada como selvagem para essa mesma mutação. A subvariante BA.2 da Ômicron foi detectada pela primeira vez na amostragem da semana epidemiológica 9 de 2022, 11 semanas após a nossa identificação da primeira Ômicron, denominada BA.1 (Figura 9).

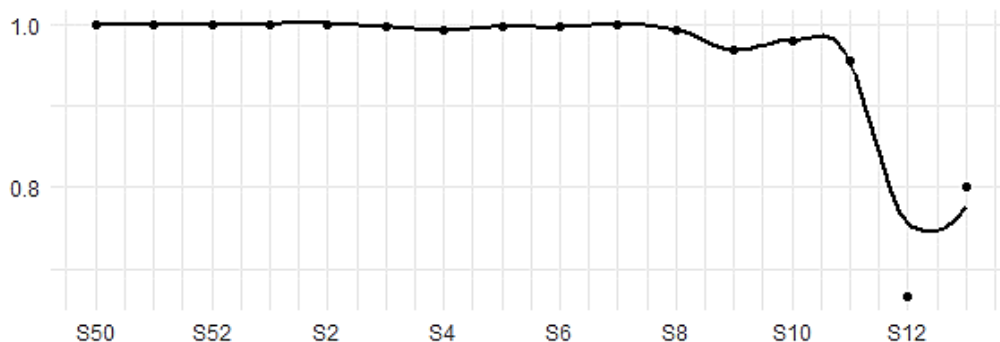


Figura 9. Frequência mediana da deleção 69/70 ao longo do período de circulação da variante Ômicron e suas subvariantes.

Foram caracterizadas como variante Ômicron um total de 1782 amostras no processo de genotipagem neste estudo. Deste número, 162 amostras foram selecionadas para análise por sequenciamento de nova geração (NGS) com o objetivo de identificar e confirmar as

sublinhagens. Para classificar os genomas obtidos através do alinhamento e identificar a presença das mutações definidoras e, assim, determinar as sublinhagens circulantes, foram utilizados o software Pangolin tool v.3.1.14 e a aplicação web NextClade v.1.7.0.

Por meio do modelo de máxima verossimilhança e utilizando sequências-referência brasileiras e internacionais, foi realizada a reconstrução filogenética dos genomas completos do SARS-CoV-2 provenientes das GRS de Minas Gerais. A árvore filogenética (Figura 10) mostra a presença de quatro sublinhagens da variante Ômicron, nomeadamente BA.1, BA.2, BA.4 e BA.5, e a classificação e distribuição das 162 amostras sequenciadas dentro dessas sublinhagens.

A análise filogenética agrupou as amostras sequenciadas deste estudo em dois clados: 126 (71,43%) genomas foram classificados na sublinhagem BA.1, enquanto 36 (28,57%) genomas foram classificados na sublinhagem BA.2. A maioria das sequências classificadas como BA.1 apresentaram maior proximidade nos ramos, indicando maior similaridade genética, exceto por uma ramificação distante presente neste clado, onde poucas sequências foram agrupadas. Em contrapartida, as amostras identificadas como BA.2, apesar de serem menos numerosas, apresentaram maior espaçamento entre suas localizações nos ramos, o que corrobora a existência de uma maior diversidade genética nesse grupo.

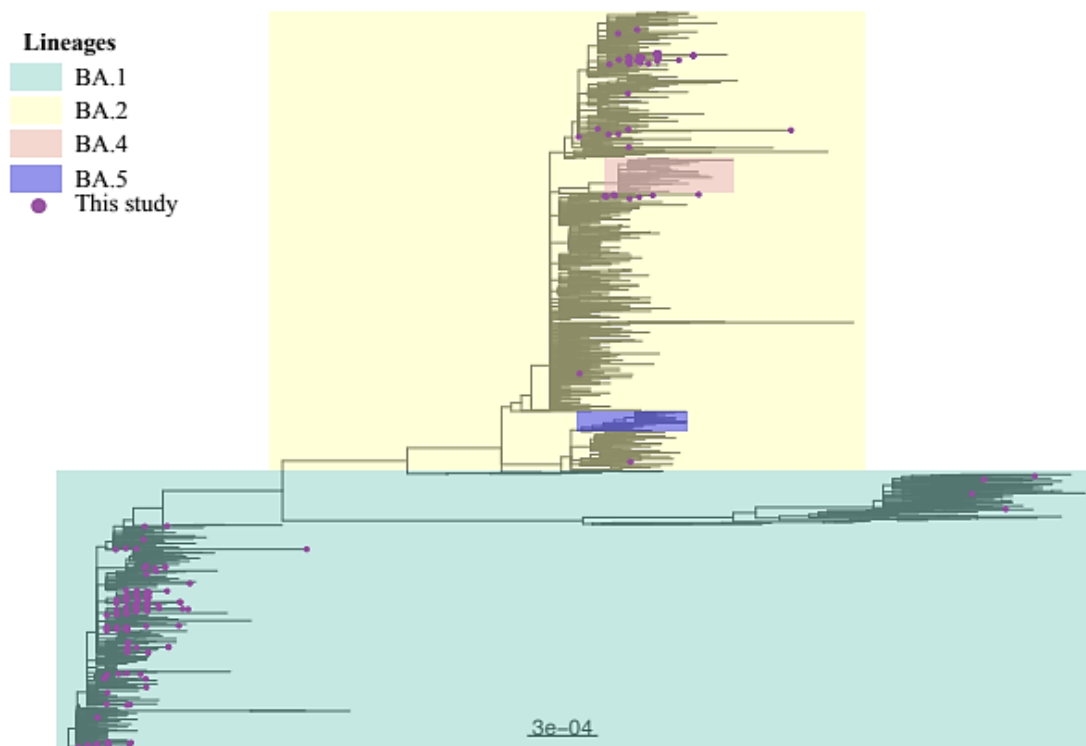


Figura 10. Filogenia de inferência de máxima verossimilhança usando um conjunto de dados de referência global. Os pontos roxos representam os genomas gerados em nosso estudo. Cores diferentes representam as sublinhagens da variante Ômicron, sendo verde BA.1, amarelo BA.2, rosa BA.4 e azul BA.5.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, realizamos a vigilância genômica do vírus SARS-CoV-2 em Minas Gerais, entre outubro de 2021 a abril de 2022. Durante as 25 semanas epidemiológicas, monitoramos a circulação da variante Delta e identificamos os primeiros casos da variante Ômicron e suas sublinhagens em nossa amostragem. Utilizamos reconstruções filogenéticas para avaliar os prováveis locais e datas de dispersão da variante Ômicron, acompanhando seu desenvolvimento até o final do estudo.

Durante as análises genótípicas realizadas entre as semanas epidemiológicas 41 a 49 de 2021 (outubro a dezembro), todas as amostras recebidas foram caracterizadas como VOC Delta, o que demonstrou a sua predominância nas GRSs durante aquele período (Figura 7). Estudos anteriores, como o realizado por Fonseca et al. (2022), indicam que a prevalência da variante Delta quase atingiu 100% em Minas Gerais em outubro de 2021. Apesar do aumento da circulação da variante Delta no estado, a prevalência da doença não resultou em um aumento significativo no número de casos e óbitos. Isso difere do que foi observado em muitos países europeus e asiáticos que enfrentaram uma terceira onda da doença devido à alta taxa de transmissibilidade da Delta (ELLIOTT et al., 2021; UMAIR et al., 2022). Este resultado pode estar relacionado ao sucesso da campanha de vacinação em Minas Gerais, pois durante este período cerca de 88% da população já havia recebido pelo menos uma dose da vacina, e 65% já havia recebido as duas doses (Gerais 2021b). Estudos indicam que a vacinação em larga escala é eficaz na redução da transmissão do vírus, o que, conseqüentemente, diminui o número de casos.

Um outro estudo sobre a variante Delta de Silva et al. (2022b), destacou que durante o período de circulação da variante, esta se tornou predominante em diversas capitais como Rio de Janeiro, São Paulo, Belo Horizonte, Belém e Porto Alegre. Os autores descrevem que observaram uma redução de sintomas como fadiga e saturação de oxigênio no grupo Delta e menos exames alterados na tomografia computadorizada (TC) e no raio-X. Entretanto, os autores também sugerem que houve um aumento na internação em UTI no grupo Delta em comparação ao grupo Gama, a variante anterior.

Embora a variante Delta tenha apresentado uma alta prevalência no início do nosso estudo e se tornado dominante em muitos estados do Brasil, observamos uma queda significativa no número de casos e mortes no cenário epidemiológico de MG no final de 2021. Essa tendência decrescente reforça os resultados encontrados em nosso estudo e é sustentada pela diminuição na proporção de amostras positivas para a variante Delta entre as semanas

epidemiológicas 41 e 52. Notavelmente, essa diminuição nos casos coincidiu com o período em que muitos indivíduos já haviam sido vacinados no estado e com o período em que identificamos a variante Ômicron pela primeira vez em nossa amostragem (Figura 8).

Em nosso estudo, a variante Ômicron foi identificada através de análises genotípicas na semana 50 de 2021 nas regionais de Belo Horizonte, Montes Claros e Varginha (Figura 7), quatro semanas após a Organização Mundial da Saúde (OMS) ter reportado a primeira identificação da variante no mundo. Além disso, nesta mesma semana epidemiológica Silva et al. (2023) observaram que a VOC foi identificada em outras partes do país, incluindo Brasília, Goiânia, Rio de Janeiro e São Paulo. Adicionalmente, o estudo de Silva et al. (2023) mostrou que a variante Ômicron foi identificada por eles pela primeira vez em Belo Horizonte na semana 49, uma semana antes da nossa identificação, o que reforça a ideia de que a VOC foi introduzida em Minas Gerais durante a primeira metade de dezembro de 2021. Esse achado reafirma a importância da vigilância genômica para o monitoramento de variantes emergentes.

Conforme mencionado, a VOC Ômicron foi identificada pela primeira vez em nosso estudo nas regionais de Belo Horizonte, Montes Claros e Varginha, sugerindo que alguns dos eventos de introdução da variante no estado possa ter ocorrido a partir dessas GRSs (Figura 7). A GRS de Belo Horizonte, localizada na região central de MG, possui uma alta densidade populacional, abrangendo 39 municípios e representando cerca de 10% da população do estado, o que pode ter impulsionado a rápida disseminação do vírus na região. Além disso, a cidade de Belo Horizonte é um centro de transporte e comércio importante no cenário nacional e internacional, o que pode ter facilitado ainda mais a disseminação e o estabelecimento da variante no estado.

De acordo com um estudo realizado por Ribeiro et al. (2020), a disseminação do vírus em nível nacional esteve diretamente relacionada aos aeroportos. A pesquisa demonstrou que cidades com alta centralidade de proximidade dentro da rede de transporte aéreo estão mais suscetíveis à propagação da doença, bem como possuem maior probabilidade de transmiti-la. Esse cenário reforça o papel crucial de uma cidade conectando diferentes cidades da malha aérea brasileira, atuando como o principal vetor de propagação da pandemia pelo país.

Devido à sua forte conexão com outras regiões do Brasil através de seus aeroportos, Belo Horizonte mostrou-se vulnerável durante a pandemia, com a possibilidade de que a introdução de novas variantes, como a Ômicron, tenha ocorrido por meio dessas conexões no estado. Um estudo recente conduzido por Silva et al. (2023) reforça essa hipótese, já que os casos da variante Ômicron surgiram primeiramente em São Paulo, seguidos pelo Rio de Janeiro e, posteriormente, em Belo Horizonte. As três regiões abrigam alguns dos aeroportos mais

movimentados do Brasil e desempenham um papel fundamental na conectividade e mobilidade dentro do país.

Por outro lado, a GRS de Varginha, está localizada na região sul de Minas Gerais e faz fronteira com o estado de São Paulo, apontado em estudos como um dos maiores epicentros da pandemia da COVID-19 no Brasil (ASSATO et al., 2023). Durante a semana epidemiológica 48 de 2021, São Paulo relatou o primeiro caso da variante Ômicron, três semanas antes de nossa primeira identificação. A proximidade geográfica entre as regiões e a discrepância nos prazos de identificação da variante sugerem que um dos eventos de introdução da Ômicron em MG possa ter ocorrido por meio do estado de São Paulo. Esse cenário foi reforçado por um estudo realizado por De Menezes et al. (2023), que cita o papel significativo de São Paulo na disseminação de outras variantes do coronavírus para Minas Gerais no passado.

Durante as semanas seguintes (SE 50 de 2021 e SE 01 de 2022), observamos uma transição na prevalência das variantes nas GRSs em Minas Gerais. Nesse período, a variante Delta foi gradualmente substituída pela Ômicron, que atingiu a dominância ainda no final de dezembro de 2021 (Figura 8). O estudo de Silva et al. (2023) também analisou essa transição e demonstrou que a chegada da variante Ômicron em MG provocou uma mudança significativa no cenário epidemiológico. Essa mudança culminou na substituição da variante Delta pela Ômicron em cerca de 3,5 semanas, demonstrando um tempo menor do que outras transições anteriores, como a da VOC Gama pela Delta. Esse rápido evento de substituição de variantes também ocorreu em outros estados, como Rio Grande do Sul (DA SILVA et al., 2022), Paraná (ADAMOSKI et al., 2022) e Amazonas (FARIA et al., 2021), demonstrando a rápida disseminação e impacto dessa nova variante no país.

Durante o período de transição, a variante Ômicron se espalhou rapidamente entre as GRSs de Minas Gerais (Figura 7). Nossas análises indicaram que na semana epidemiológica 52 de 2021, a Ômicron já representava 70% das amostras classificadas na regional de Belo Horizonte, 90% na regional de Varginha e 100% nas demais regionais. Acompanhamos a dinâmica da variante desde o seu surgimento em dezembro de 2021 até abril de 2022, quando já havia se estabelecido como a variante dominante no cenário epidemiológico do estado. Durante este período, houve um aumento acentuado no número de casos simultâneos, culminando em uma nova onda epidêmica. Entre as semanas 52 de 2021 e 8 de 2022, Minas Gerais enfrentou o maior pico de infecções desde o início da pandemia de COVID-19 (ALCÂNTARA et al., 2022). Nesse mesmo período, recebemos o maior número amostral desde o início do estudo.

Desde a sua identificação em nosso estudo, a variante Ômicron se disseminou

rapidamente entre as GRSs de Minas Gerais, apresentando um aumento progressivo na sua capacidade de transmissão. Essa maior transmissibilidade pode estar associada a cargas virais mais elevadas no trato respiratório superior, o que já foi observado em estudos anteriores sobre as variantes Alfa e Delta (TEYSSOU et al., 2021; KIDD et al., 2021). Apesar dessa maior transmissibilidade, a maioria dos casos atribuídos à Ômicron tem sido leves, com sintomas mais brandos em indivíduos vacinados e previamente infectados em comparação com aqueles não vacinados (ADAMOSKI et al., 2022).

Isso pode ser explicado parcialmente pela baixa patogenicidade intrínseca da Ômicron (SHI; DONG, 2021), bem como pela alta soroprevalência da população, resultante da vacinação e/ou infecções prévias. Além disso, estudos têm apontado que a Ômicron apresenta uma alta taxa de transmissibilidade em comparação com a variante Delta, o que pode ser explicado pelas suas propriedades de evasão imune (DA SILVA et al., 2022). Como resultado, a Ômicron tem ultrapassado a Delta em áreas onde ocorre a transmissão comunitária.

Recentemente, a pandemia global tem sido moldada pela emergência e disseminação de múltiplas subvariantes da Ômicron, incluindo BA.2, BA.3, BA.4 e BA.5, todas elas surgindo após a identificação da primeira Ômicron, BA.1. Durante a terceira onda epidêmica em MG (ALCÂNTARA et al., 2022), identificamos através de análises filogenéticas o aparecimento da primeira sublinhagem em nossa amostragem, a BA.2 durante a semana epidemiológica 9 de 2022 (Figura 9), cerca de 11 semanas após a nossa identificação da BA.1. Outros estudos, como os de De Menezes et al. (2023) e Silva et al. (2023), detectaram essa sublinhagem um pouco antes, nas semanas epidemiológicas 7 e 6, respectivamente. Embora a BA.2 tenha sido identificada em menor quantidade em nossas análises, essa sublinhagem contribuiu significativamente para o elevado número de casos naquele período, como demonstrado por Queiroz et al. (2022).

Nossas análises filogenéticas sugerem que as sublinhagens da variante Ômicron compartilham algumas mutações, mas também apresentam características específicas, evidenciadas pela distância entre suas sequências em diferentes ramos e clados da árvore filogenética (Figura 10). Estudos recentes, como o realizado por De Menezes et al. (2023), indicam que as diferenças genômicas dentro da linhagem BA.2 podem ter contribuído para uma maior transmissibilidade em comparação com a BA.1, mas ainda assim menor do que a da Ômicron em relação à Delta. Segundo os resultados desse estudo, a BA.1 é 2,59 vezes mais transmissível do que a VOC Delta, enquanto a BA.2 é apenas 1,5 vezes mais transmissível que a BA.1. Outras pesquisas também demonstram que as infecções pela BA.2 parecem levar a uma carga viral mais elevada do que as causadas pela BA.1, conforme apontado por Hirotsu et al.

(2021). No entanto, estudos como os de Lewnard et al. (2021) e Wolter et al. (2022) não mostraram diferenças significativas nos resultados clínicos entre as variantes BA.1 e BA.2.

Com base nos resultados obtidos pela vigilância genômica realizada neste estudo, foi possível observar a co-circulação das subvariantes BA.1 e BA.2 da variante Ômicron entre as GRSs analisadas durante a terceira onda de infecções em MG. Embora tenha sido identificado um número menor de amostras da subvariante BA.2 em relação à BA.1, é importante destacar que essa diferença pode ter sido influenciada pelo tempo de identificação, uma vez que a subvariante BA.2 foi identificada apenas quatro semanas antes das últimas análises realizadas. É relevante ressaltar que a terceira onda de infecções iniciada em janeiro de 2022 apresentou um pico de infecções mais acentuado em relação às outras duas ondas em MG (ALCÂNTARA et al., 2022). No entanto, também demonstrou uma queda igualmente rápida ao seu aparecimento, sendo que no final de fevereiro (SE 9), foi observada uma significativa diminuição no número de casos no estado, bem como no número de amostras recebidas pelas GRSs. Essa tendência se manteve até o fim do nosso estudo em abril de 2022.

Outros estudos anteriores também realizaram a vigilância genômica no estado de MG e acompanharam a introdução e/ou disseminação de outras variantes de preocupação. Neste contexto, os trabalhos de Alves et al. (2022) e Fonseca et al. (2022) merecem destaque. Ambos os estudos também analisaram amostras de diferentes GRS do estado, ainda que com algumas diferenças metodológicas em relação ao número de amostras, período de estudo e distribuição das amostras.

No estudo de Alves et al. (2022), foram analisadas 1240 amostras de todas as 28 GRS de Minas Gerais, em um período de 9 semanas epidemiológicas, durante a segunda onda epidêmica, entre 1 de março e 27 de abril de 2021. A análise das amostras permitiu a avaliação da dispersão e da dominância da VOC Gama no estado, o que foi de grande importância para compreender a dinâmica de transmissão da variante no território mineiro. Já o estudo de Fonseca et al. (2022) analisou 2407 amostras de 10 GRS de Minas Gerais, coletadas ao longo de 14 semanas epidemiológicas, entre o período de julho e setembro de 2021. Nesse trabalho, as amostras foram distribuídas de forma mais uniforme, com cerca de 20 amostras por semana de cada GRS. Além disso, as reconstruções filogenéticas foram utilizadas para avaliar a dispersão e a dominância da variante Delta no estado, fornecendo informações valiosas sobre a trajetória evolutiva da variante em Minas Gerais.

Comparando com o nosso estudo, é importante destacar que investigamos um período mais longo (25 semanas epidemiológicas) e um número maior de amostras (2561), o que permitiu uma análise mais abrangente da dinâmica de transmissão de outras variantes em Minas

Gerais (Figura 6). No entanto, os estudos anteriores forneceram contribuições importantes para a compreensão do cenário epidemiológico do estado, e nossos resultados corroboram e expandem as conclusões desses trabalhos anteriores.

Ainda no contexto da vigilância genômica em Minas Gerais, é fundamental destacar os estudos realizados na capital Belo Horizonte, que é considerada um epicentro de disseminação de variantes preocupantes. Estudos como os de Queiroz et al. (2022) e De Menezes et al. (2023) realizaram monitoramentos exclusivamente na capital, permitindo uma avaliação mais precisa da situação na região. No entanto, é importante ressaltar que a inclusão de outras regiões geográficas do estado é fundamental para garantir uma representatividade mais abrangente do cenário epidemiológico em todo o estado. Uma visão mais ampla, que inclua GRSs, é necessária para entender a disseminação de variantes em todo o estado de Minas Gerais.

Os estudos de vigilância genômica têm desempenhado um papel crucial no acompanhamento da progressão do vírus e no embasamento das decisões tomadas pelas autoridades de saúde pública (MENEZES et al., 2022). No Brasil, um marco importante no início da vigilância genômica do SARS-CoV-2 foi alcançado pelo grupo liderado por De Jesus et al. (2020), que realizou o primeiro sequenciamento do vírus no país. Essa pesquisa pioneira revelou que o início da pandemia no país foi caracterizado por múltiplas introduções independentes do vírus, principalmente provenientes da Itália, seguidas pela transmissão local em São Paulo. Esses resultados forneceram a base para que outros grupos, incluindo o nosso, pudessem iniciar o monitoramento genômico em diferentes regiões do país, com diferentes metodologias (Tabela 1). O esforço colaborativo resultante estabeleceu a vigilância genômica do SARS-CoV-2 como uma ferramenta essencial para o controle da pandemia no Brasil, contribuindo significativamente para a identificação e o acompanhamento de diferentes variantes e ondas epidêmicas ao longo do período.

Tabela 1. Estudos de vigilância genômica do vírus SARS-CoV-2 no Brasil.

Fonte	Número de amostras	Período de amostragem	Local	Metodologia empregada	Principais resultados
Xavier et al. (2020)	48	Abril de 2020	Minas Gerais	Sequenciamento NGS utilizando a plataforma MinION.	Identificação de múltiplas introduções independentes do vírus SARS-CoV-2 em MG.
Ferreira et al. (2022)	20	Março a maio de 2020	Minas Gerais	Sequenciamento NGS utilizando a plataforma MinION.	Identificação da circulação e predominância de isolados da linhagem B.1 em MG. Também foram observadas substituições de nucleotídeos nas regiões genômicas relacionadas a importantes estruturas virais.
Silva et al. (2022)	84	Junho a julho de 2020	Betim	Sequenciamento NGS utilizando a plataforma MiSeq (Illumina).	Confirmação da circulação das linhagens B.1.1.28 e B.1.1.33 durante a primeira onda da pandemia de COVID-19 na cidade.
Alves et al. (2022)	1240	Março a abril de 2021	Minas Gerais	Bancos de dados públicos de MG, genotipagem (rhAmp) por RT-qPCR e sequenciamento NGS utilizando as plataformas MiSeq (Illumina) e IonTorrent.	Identificação da introdução da VOC Gama e outras linhagens menos frequentes (Alfa e Zeta) em MG, e a não associações entre carga viral e desfecho clínico.
Silva et al. (2022b)	61815	Abril a outubro de 2021	Brasil	Genotipagem por RT-qPCR e sequenciamento NGS utilizando a plataforma MiSeq (Illumina).	Substituição da VOC Gama pela Delta no país, seguida de aumento da transmissibilidade e sintomas respiratórios associados.
Fonseca et al. (2022)	2407	Junho a outubro de 2021	Minas Gerais	Genotipagem (rhAmp) por RT-qPCR e por sequenciamento de Sanger, sequenciamento NGS utilizando as plataformas MiSeq (Illumina) e IonTorrent.	Monitoramento da variante Gama e identificação da variante Delta em MG com posterior deslocamento de linhagem induzido pela Delta.
Este estudo (2023)	2561	Outubro de 2021 a abril de 2022	Minas Gerais	Genotipagem por RT-qPCR e sequenciamento NGS utilizando a plataforma MiSeq (Illumina).	Monitoramento da variante Delta e identificação da variante Ômicron com posterior deslocamento de linhagem induzido pela Ômicron e aumento progressivo no número de casos. Identificação da sublinhagem BA.2.
Queiroz et al. (2022)	111	Março a junho de 2022	Belo Horizonte	Sequenciamento NGS utilizando a plataforma MiSeq (Illumina).	Identificação das variantes Ômicron BA.1, BA.2 e XAG durante a terceira e quarta onda. E avaliação da progressiva substituição do clado BA.1 pelo BA.2.
Silva et al. (2023)	291571	Agosto de 2021 a março de 2022	Brasil	Genotipagem por RT-qPCR e sequenciamento NGS utilizando a plataforma MiSeq (Illumina).	A Ômicron foi detectada no final de novembro de 2021 no país e substituiu a Delta mais rapidamente do que o observado entre a Gama e Delta. A VOC Ômicron apresentou uma carga viral menor em pacientes infectados do que a Delta.

De Menezes et al. (2023)	430	Novembro de 2021 a junho de 2022	Belo Horizonte	Sequenciamento NGS utilizando a plataforma MinION.	Avaliação da rápida substituição da variante Delta pela Ômicron, sem aumento no número de óbitos e internações. Introduções subsequentes de linhagens Ômicron distintas (BA.1 e BA.2). Identificação da importância do estado de São Paulo como responsável pela disseminação viral no país.
De Jesus et al. (2020)	6	Fevereiro de 2020	São Paulo	Diagnóstico por RT-qPCR e sequenciamento NGS utilizando MinKNOW.	Identificação de múltiplas introduções independentes do SARS-CoV-2 no Brasil, provenientes da Itália, seguidas pela transmissão local do vírus em São Paulo.
Slavov et al. (2021)	29	Março a abril de 2020 e dezembro de 2020	Ribeirão Preto	Sequenciamento NGS utilizando a plataforma MinION.	Identificação das cepas B.1.1.33, B.1.1 e B.1.1.28 no início da pandemia. E das cepas brasileiras de preocupação P.1 e P.2 durante a segunda onda epidêmica.
Faria et al. (2021)	184	Novembro de 2020 a janeiro de 2021	Manaus	Sequenciamento NGS utilizando a plataforma MinION.	Identificação de uma nova linhagem do SARS-CoV-2 em Manaus, denominada P1, com 17 alterações de aminoácidos (incluindo 10 na proteína <i>spike</i>).
Adamoski et al. (2022)	1299	Junho de 2020 a janeiro de 2022	Curitiba	Genotipagem por RT-qPCR (TaqMan) e sequenciamento NGS (ABI 3500xL).	Monitoramento da variante Delta e identificação da variante Ômicron com posterior deslocamento de linhagem induzido pela Ômicron no Paraná. Identificação da baixa letalidade da variante Ômicron em relação as demais variantes identificadas.
Da Silva et al. (2022)	152	Novembro de 2021 a março de 2022	Rio Grande do Sul	Sequenciamento NGS utilizando a plataforma MiSeq (Illumina).	Avaliação do cenário epidemiológico durante a substituição da variante Delta pela Ômicron e identificação de uma nova sublinhagem Ômicron (Ômicron-L452R)

Durante o processo de vigilância genômica em nosso estudo, avaliamos a frequência e a disseminação das variantes virais por meio de técnicas de genotipagem por RT-qPCR (Fig. 7), associadas à avaliação do cenário epidemiológico do estado. Posteriormente, algumas amostras foram selecionadas para classificação e determinação de linhagens por sequenciamento utilizando a tecnologia Illumina. Observamos que a taxa de concordância dos resultados obtidos com a genotipagem foi de 100% em relação aos resultados do sequenciamento. Isso indica que a genotipagem por RT-qPCR pode ser um método eficaz para monitorar as variantes virais. Além disso, outros trabalhos relevantes também utilizaram a genotipagem como método inicial para classificar as linhagens virais, seguido pelo sequenciamento para confirmar os resultados obtidos. Entre esses trabalhos, destacam-se os estudos do nosso grupo de Fonseca et al. (2022), Silva et al. (2022b) e Alves et al. (2022), e de outros grupos nos Estados Unidos de Neopane et al. (2021) e Borillo et al. (2022), e na Holanda de Koets et al. (2023).

Embora o sequenciamento genômico de nova geração seja considerado o padrão-ouro na determinação de linhagens virais, fornecendo uma visão completa e detalhada da sequência genômica do vírus, sua aplicação é limitada devido aos altos custos e tempo necessário para obtenção dos resultados. Por outro lado, a genotipagem por RT-qPCR é uma alternativa mais acessível e rápida, porém pode apresentar limitações na identificação de mutações específicas relevantes para a classificação precisa das linhagens virais. Apesar dessas limitações, demonstramos em nosso estudo que a genotipagem pode ser uma alternativa viável e confiável para monitorar as variantes virais em tempo hábil e em grande escala.

Além das técnicas de sequenciamento de nova geração e genotipagem por RT-qPCR, que são amplamente utilizadas para monitorar variantes virais, algumas pesquisas recentes têm explorado a metodologia de sequenciamento de Sanger para este fim, como observado nos estudos de Dorlass et al. (2021), Cabral et al. (2022) e Salles et al. (2022). Embora menos poderosa em comparação às técnicas de sequenciamento de nova geração, o sequenciamento de Sanger é mais preciso do que a genotipagem por RT-qPCR e pode ser uma alternativa mais econômica, embora seja mais demorado e trabalhoso que ambos. Essas descobertas evidenciam a complexidade metodológica envolvida no processo de monitoramento de variantes, mas também destacam a importância de considerar outras possibilidades para realizar a vigilância genômica.

É importante ressaltar que houve uma variação significativa no número de amostras recebidas para o monitoramento das variantes virais em nosso estudo, tanto entre as diferentes GRSs selecionadas quanto entre as semanas epidemiológicas (Figura 6). Esse perfil quantitativo

segiu o mesmo padrão da curva de casos no estado, com uma queda gradual entre outubro e dezembro de 2021, seguida por um aumento progressivo a partir de janeiro de 2022. No entanto, a quantidade de amostras recebidas em cada GRS pode impactar diretamente a porcentagem de detecção das variantes. Algumas regionais, como Pouso Alegre, Pedra Azul e Unaí, enviaram um número significativamente menor do que as outras, o que pode ter resultado na não detecção de uma determinada variante mesmo que esteja circulando naquela região. Por outro lado, algumas GRS, como Belo Horizonte, Montes Claros e Varginha, enviaram um maior número de amostras, aumentando a probabilidade de detecção das variantes nessas regiões e, portanto, a representatividade do estudo.

Este estudo apresentou outras limitações importantes que precisam ser consideradas. Em particular, durante o processo de monitoramento da variante Ômicron por genotipagem, utilizamos uma única posição no genoma viral para identificá-la. No entanto, dado que a variante Ômicron se mostrou extremamente diversa, monitorá-la apenas por essa posição limitou nossa capacidade de identificar rapidamente eventos que levaram à variabilidade genética dessa variante. O uso desta metodologia baseada em uma única mutação pode ter subestimado a diversidade viral na amostragem e dificultado a identificação de outras subvariantes que estiveram em circulação durante o período do estudo e desapareceram rapidamente, como a BA.1.1.

Além das limitações já mencionadas, é importante ressaltar que este estudo apresentou outras restrições relacionadas à representatividade dos indivíduos infectados. As amostras deste estudo foram coletadas a partir das GRSs e basearam-se em manifestações clínicas, uma vez que os critérios de diagnóstico adotados pelas unidades públicas de saúde do estado se limitavam aos sintomas. Consequentemente, indivíduos assintomáticos podem ter sido excluídos da amostragem, o que resultou na identificação de variantes apenas em indivíduos sintomáticos. Em contrapartida, outros estudos que utilizaram amostras provenientes de instituições privadas tiveram a oportunidade de identificar variantes em indivíduos assintomáticos, uma vez que nessas instituições desde o início da pandemia os indivíduos detinham maior liberdade para realizarem o diagnóstico, mesmo que não apresentassem sintomas.

Apesar de suas limitações, os resultados deste estudo de vigilância genômica desempenharam um papel fundamental na compreensão do cenário epidemiológico de Minas Gerais durante a terceira onda epidêmica. Através de uma comunicação em tempo real com os órgãos de saúde pública do estado, as informações obtidas puderam ser utilizadas para orientar a tomada de decisões e elaborar políticas públicas eficazes no controle da propagação do vírus.

Além disso, esse estudo deixou um legado de conhecimento sobre a importância do monitoramento contínuo e em tempo real, que pode ser aplicado em futuros eventos, sejam eles endêmicos ou pandêmicos, contribuindo para a prevenção e controle de doenças. Nesse sentido, os dados obtidos por meio de vigilâncias genômicas, como a realizada neste estudo, têm o potencial de serem utilizados para monitorar a evolução do vírus, detectar novas variantes e agir rapidamente e de forma eficaz para conter surtos e prevenir a propagação da doença.

6 CONCLUSÃO

Este estudo forneceu resultados importantes sobre a disseminação das variantes Delta, Ômicron BA.1 e BA.2 do vírus SARS-CoV-2 em 15 GRSs do estado de MG entre outubro de 2021 e abril de 2022. As análises genótípicas e filogenéticas, juntamente com a avaliação do cenário epidêmico, permitiram compreender a disseminação das variantes e a introdução da Ômicron no estado, que substituiu rapidamente a variante Delta em questão de semanas. As análises geográficas e temporais identificaram eventos de introdução da VOC Ômicron no estado a partir das GRSs analisadas. O estudo ressaltou a importância e eficácia da técnica de genotipagem por RT-qPCR no monitoramento das variantes e reforçou a relevância da vigilância genômica como ferramenta essencial no controle da pandemia e na prevenção de surtos futuros. Essas descobertas são relevantes não apenas para a COVID-19, mas para outras doenças infecciosas com genoma viral, evidenciando a importância do investimento em vigilância genômica.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, Z.; LI, M.; WANG, X. **Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and Influenza A Respiratory Viruses.** *Frontiers in Immunology* Frontiers Media S.A., , 11 set. 2020.
- ADAMOSKI, D. et al. SARS-CoV-2 Delta and Omicron Variants Surge in Curitiba, Southern Brazil, and Its Impact on Overall COVID-19 Lethality. *Viruses*, v. 14, n. 4, 1 abr. 2022.
- ADELINO, T. É. R. et al. Field and classroom initiatives for portable sequence-based monitoring of dengue virus in Brazil. *Nature Communications*, v. 12, n. 1, 1 dez. 2021.
- ALCANTARA, L. C. J. et al. SARS-CoV-2 epidemic in Brazil: how the displacement of variants has driven distinct epidemic waves. *Virus Research*, v. 315, 2 jul. 2022.
- ALVES, H. J. et al. Monitoring the Establishment of VOC Gamma in Minas Gerais, Brazil: A Retrospective Epidemiological and Genomic Surveillance Study. *Viruses*, v. 14, n. 12, 1 dez. 2022.
- AMARAL, P. H. R. et al. Impact of COVID-19 in Minas Gerais, Brazil: Excess deaths, sub-notified cases, geographic and ethnic distribution. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 68, n. 4, p. 2521–2530, 1 jul. 2021.
- ANDR ZEISER, F. et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: A cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. 2022.
- ANDRADE, M. V. et al. The first 80 days of the covid-19 pandemic in the city of belo horizonte: From containment to reopening. *Nova Economia*, v. 30, n. 2, p. 701–737, 1 maio 2020.
- ASSATO, P. A. et al. Retrospective Insights of the COVID-19 Epidemic in the Major Latin American City, São Paulo, Southeastern Brazil. *Viruses*, v. 15, n. 2, 1 fev. 2023.
- ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DE MINAS GERAIS. Decreto nº 47891, 2020. Disponível em: <https://www.almg.gov.br/legislacao-mineira/DEC/47891/2020/;PORTAL_SESSIONID=A53E4061356A9906B3ABBBA9FCE01EDE.worker1> Acesso em: 12 de nov de 2022.
- BALOCH, S. et al. **The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic.** *Tohoku Journal of Experimental Medicine* Tohoku University Medical Press, , 2020.
- BCHETNIA, M. et al. **The outbreak of the novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): A review of the current global status.** *Journal of Infection and Public Health* Elsevier Ltd, , 1 nov. 2020.
- BORILLO, G. A.; KAGAN, R. M.; MARLOWE, E. M. Rapid and Accurate Identification of SARS-CoV-2 Variants Using Real Time PCR Assays. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 12, 10 maio 2022.
- CABRAL, G. B. et al. Use of Sanger protocols to identify variants of concern, key mutations and track evolution of SARS-CoV-2. *Journal of Virological Methods*, v. 300, 1 fev. 2022.
- CANDIDO, D. S. et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science*, v. 369, n. 6508. 2020.
- CASTRO, M. C. et al. **Spatiotemporal pattern of COVID-19 spread in Brazil.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.science.org>>.

- CHAN, J. M.; RABADAN, R. Quantifying pathogen surveillance using temporal genomic data. **mBio**, v. 4, n. 1, 2013.
- CHEN, J. et al. Mutations Strengthened SARS-CoV-2 Infectivity. **Journal of Molecular Biology**, v. 432, n. 19, p. 5212–5226, 4 set. 2020.
- CHERIAN, S. et al. Sars-cov-2 spike mutations, 1452r, t478k, e484q and p681r, in the second wave of covid-19 in Maharashtra, India. **Microorganisms**, v. 9, n. 7, 1 jul. 2021.
- CHOI, J. Y.; SMITH, D. M. **SARS-CoV-2 variants of concern**. **Yonsei Medical Journal** Yonsei University College of Medicine, , 1 nov. 2021.
- CLARO, I. M. et al. Local transmission of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7, Brazil, December 2020. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 3, p. 970–972, 1 mar. 2021.
- CUI, Z. et al. Structural and functional characterizations of infectivity and immune evasion of SARS-CoV-2 Omicron. **Cell**, v. 185, n. 5, p. 860- 871.e13, 3 mar. 2022.
- DA SILVA, M. S. et al. Genomic and epidemiologic surveillance of SARS-CoV-2 in Southern Brazil and identification of a new Omicron-L452R sublineage. **Virus Research**, v. 321, 1 nov. 2022.
- DE JESUS, J. G. et al. Importation and early local transmission of covid-19 in brazil, 2020. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 62, 2020.
- DE MENEZES, M. T. et al. Dynamics of Early Establishment of SARS-CoV-2 VOC Omicron Lineages in Minas Gerais, Brazil. **Viruses**, v. 15, n. 2, 1 fev. 2023.
- DE PAULA-JÚNIOR, W. et al. COVID-19 in medium-sized municipalities in the 14 health macro-regions of Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 54, n. 11, 2021.
- DONG, E.; DU, H.; GARDNER, L. **An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time**. **The Lancet Infectious Diseases** Lancet Publishing Group, , 1 maio 2020.
- DORLASS, E. G. et al. Survey of SARS-CoV-2 genetic diversity in two major Brazilian cities using a fast and affordable Sanger sequencing strategy. **Genomics**, v. 113, n. 6, p. 4109–4115, 1 nov. 2021.
- DOS SANTOS, C. A. et al. SARS-CoV-2 genomic surveillance in Northeast Brazil: timing of emergence of the Brazilian variant of concern P1. **Journal of Travel Medicine**, v. 28, n. 7, 1 out. 2021.
- DU. et al. Risk for Transportation of Coronavirus Disease from Wuhan to Other Cities in China. **Viral Diseases**, v. 26, n. 5, 5 may. 2020.
- EL-SHABASY, R. M. et al. **Three waves changes, new variant strains, and vaccination effect against COVID-19 pandemic**. **International Journal of Biological Macromolecules** Elsevier B.V., , 15 abr. 2022.
- ELLIOTT, P. et al. Exponential growth, high prevalence of SARS-CoV-2, and vaccine effectiveness associated with the Delta variant. **Science**, v. 374, n. 6574, 17 dez. 2021.
- FARIA, N. R. et al. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. **Science**, v. 352, n. 6283, p. 345–349, 15 abr. 2016.

- FARIA, N. R. et al. **Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil** *Mélodie Monod*. 2021. Disponível em: <<http://pangolin.cog-uk.io>>.
- FERREIRA, G. M. et al. Molecular characterization and sequencing analysis of SARS-CoV-2 genome in Minas Gerais, Brazil. **Biologicals**, v. 80, p. 43–52, 1 out. 2022.
- FONSECA, P. L. C. et al. Tracking the turnover of SARS-CoV-2 VOCs Gamma to Delta in a Brazilian state (Minas Gerais) with a high-vaccination status. **Virus Evolution**, v. 8, n. 2, 1 jul. 2022.
- GIOVANETTI, M. et al. Evolution patterns of SARS-CoV-2: Snapshot on its genome variants. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 538, p. 88–91, 29 jan. 2021.
- GIOVANETTI, M. et al. Replacement of the Gamma by the Delta variant in Brazil: Impact of lineage displacement on the ongoing pandemic. **Virus Evolution**, v. 8, n. 1, 2022.
- GRUBAUGH, N. D.; PETRONE, M. E.; HOLMES, E. C. **We shouldn't worry when a virus mutates during disease outbreaks**. *Nature Microbiology* Nature Research, , 1 abr. 2020.
- HAN, D. et al. **Covid-19: Insight into the asymptomatic sars-cov-2 infection and transmission**. *International Journal of Biological Sciences* Ivyspring International Publisher, , 2020.
- HARRISON, A. G.; LIN, T.; WANG, P. **Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis**. *Trends in Immunology* Elsevier Ltd, , 1 dez. 2020.
- HARVEY, W. T. et al. **SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape**. *Nature Reviews Microbiology* Nature Research, , 1 jul. 2021.
- HILLEN, H. S. **Structure and function of SARS-CoV-2 polymerase**. *Current Opinion in Virology* Elsevier B.V., , 1 jun. 2021.
- HIROTSU Y. et al. Sublineage SARS-CoV-2 Omicron BA.2 replaces BA.1.1: Genomic surveillance in Japan from September 2021 to March 2022. **J Infect**. 2022; 85(2):174-211.
- HU, B. et al. Spike mutations contributing to the altered entry preference of SARS-CoV-2 omicron BA.1 and BA.2. **Emerging Microbes and Infections**, v. 11, n. 1, p. 2275–2287, 2022.
- ISER, B. P. M. et al. **Definição de caso suspeito da COVID-19: uma revisão narrativa dos sinais e sintomas mais frequentes entre os casos confirmados**. *Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Unico de Saúde do Brasil* NLM (Medline), , 2020.
- JACKSON, C. B. et al. **Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells**. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* Nature Research, , 1 jan. 2022.
- KHAN. et al. COVID-19: A Global Challenge with Old History, *Epidemiology and Progress So Far*. **Molecules**, v. 26, n. 39, 24 nov. 2021.
- KIDD, M. et al. The SARS-CoV-2 S-Variant B.1.1.7 is associated with significantly higher viral loads in samples tested by TaqPath polymerase chain reaction. **J. Infect. Dis.**, v. 223, p. 1666-1670. 2021.
- KOETS, L. et al. Efficient SARS-CoV-2 Surveillance during the Pandemic-Endemic Transition Using PCR-Based Genotyping Assays. **Microbiology Spectrum**, 8 maio 2023.

- KUMAR, S.; KARUPPANAN, K.; SUBRAMANIAM, G. Omicron (BA.1) and sub-variants (BA.1.1, BA.2, and BA.3) of SARS-CoV-2 spike infectivity and pathogenicity: A comparative sequence and structural-based computational assessment. **Journal of Medical Virology**, v. 94, n. 10, p. 4780–4791, 1 out. 2022.
- LAMARCA, A. P. et al. Genomic surveillance of sars-cov-2 tracks early interstate transmission of p.1 lineage and diversification within p.2 clade in brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 10, 1 out. 2021.
- LEWNARD, J. A. et al. Clinical outcomes associated with SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant and BA.1/BA.1.1 or BA.2 subvariant infection in Southern California. **Nature Medicine**, v. 28, n. 9, p. 1933–1943, 1 set. 2022.
- LI, R. et al. Clinical characteristics of 225 patients with COVID-19 in a tertiary Hospital near Wuhan, China. **Journal of Clinical Virology**, v. 127, 1 jun. 2020.
- LOBO, A. DE P. et al. COVID-19 epidemic in Brazil: Where are we at? **International Journal of Infectious Diseases**, v. 97, p. 382–385, 1 ago. 2020.
- LU, R. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **The Lancet**, v. 395, n. 10224, p. 565–574, 22 fev. 2020.
- MCCALLUM, M. et al. Structural basis of SARS-CoV-2 Omicron immune evasion and receptor engagement. **Science**, v. 375, n. 6583, p. 894–898, 25 fev. 2022.
- MENEZES, D. et al. **SARS-CoV-2 Genomic Surveillance in Brazil: A Systematic Review with Scientometric Analysis**. **VirusesMDPI**, , 1 dez. 2022.
- MOURA. et al. Disponibilidade de dados públicos em tempo oportuno para a gestão: análise das ondas da COVID-19. **Scielo**. [s.d.].
- MURALIDAR, S. et al. **The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2**. **BiochimieElsevier B.V.**, , 1 dez. 2020.
- NAVECA, F. G. et al. Genomic, epidemiological and digital surveillance of Chikungunya virus in the Brazilian Amazon. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 3, 1 mar. 2018.
- NAVECA, F. G. et al. COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P.1 emergence. **Nature Medicine**, v. 27, n. 7, p. 1230–1238, 1 jul. 2021.
- NEOPANE, P. et al. SARS-CoV-2 variants detection using TaqMan SARS-CoV-2 mutation panel molecular genotyping assays. **Infection and Drug Resistance**, v. 14, p. 4471–4479, 2021.
- ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE. OMS declara emergência de saúde pública de importância internacional por surto de novo coronavírus, 2020a. Disponível em: < <https://www.paho.org/pt/news/30-1-2020-who-declares-public-health-emergency-novel-coronavirus>> Acesso em: 4 de out de 2022.
- ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE. OMS afirma que COVID-19 é agora caracterizada como pandemia, 2020b. Disponível em: < <https://www.paho.org/pt/news/11-3-2020-who-characterizes-covid-19-pandemic>> Acesso em: 4 de out de 2022.

PAPANIKOLAOU, V. et al. **From delta to Omicron: S1-RBD/S2 mutation/deletion equilibrium in SARS-CoV-2 defined variants.** *GeneElsevier B.V.*, , 10 mar. 2022.

PILLAY, T. S. Gene of the month: The 2019-nCoV/SARS-CoV-2 novel coronavirus spike protein. **Journal of Clinical Pathology**, v. 73, n. 7, p. 366–369, 1 jul. 2020.

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM GENÉTICA. Ações de enfrentamento à COVID-19, 2021. Disponível em: < <http://pggenetica.icb.ufmg.br/acoesCOVID/ovigen.php>> Acesso em: 8 de nov de 2022.

QUEIROZ, D. C. et al. SARS-CoV-2 Omicron BA.1, BA.2, and XAG identification during routine surveillance on a university campus in Belo Horizonte, Brazil, 2022. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 2009–2014, 1 dez. 2022.

RAMBAUT, A. et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. **Nature Microbiology**, v. 5, n. 11, p. 1403–1407, 1 nov. 2020.

RESENDE, P. C. et al. The ongoing evolution of variants of concern and interest of SARS-CoV-2 in Brazil revealed by convergent indels in the amino (N)-terminal domain of the spike protein. **Virus Evolution**, v. 7, n. 2, 2021b.

RESENDE, P. C. et al. Evolutionary Dynamics and Dissemination Pattern of the SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.33 During the Early Pandemic Phase in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 17 fev. 2021a.

RIBEIRO, S. P. et al. Severe airport sanitarian control could slow down the spreading of COVID-19 pandemics in Brazil. **PeerJ**, v. 2020, n. 6, 2020.

SALLES, T. S. et al. Genomic surveillance of SARS-CoV-2 Spike gene by sanger sequencing. **PLoS ONE**, v. 17, n. 1 January, 1 jan. 2022.

SANJUÁN, R. et al. Viral Mutation Rates. **Journal of Virology**, v. 84, n. 19, p. 9733–9748, out. 2010.

SANYAL, S. **How SARS-CoV-2 (COVID-19) spreads within infected hosts - What we know so far.** *Emerging Topics in Life Sciences*Portland Press Ltd, , 1 dez. 2020.

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS. Boletim epidemiológico coronavírus, 2020. Disponível em: < [Boletim Epidemiológico Coronavírus - 2020 \(saude.mg.gov.br\)](http://BoletimEpidemiologicoCoronavirus-2020(saude.mg.gov.br))> Acesso em: 7 de out de 2022.

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS. Boletim epidemiológico, 2021a. Disponível em: < 26-01-COVID-19__BOLETIM20220126.pdf (saude.mg.gov.br)> Acesso em: 7 de out de 2022.

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS. Boletim epidemiológico coronavírus, 2022. Disponível em: < [Boletim Epidemiológico Coronavírus - 2021 \(saude.mg.gov.br\)](http://BoletimEpidemiologicoCoronavirus-2021(saude.mg.gov.br))> Acesso em: 5 de dez de 2022.

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS. Vacinômetro, 2021b. Disponível em: < [Painel Vacinômetro \(saude.mg.gov.br\)](http://PainelVacinometro(saude.mg.gov.br))> Acesso em: 15 de dez de 2022.

SHARMA, A.; AHMAD FAROUK, I.; LAL, S. K. **Covid-19: A review on the novel coronavirus disease evolution, transmission, detection, control and prevention.** *Viruses*MDPI AG, , 1 fev. 2021.

- SHI, Q.; DONG, X.-P. Rapid Global Spread of the SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Variant: Spatiotemporal Variation and Public Health Impact. **Zoonoses**, v. 1, n. 1, 17 ago. 2021.
- SILVA, A. V. F. G. et al. Seroprevalence, Prevalence, and Genomic Surveillance: Monitoring the Initial Phases of the SARS-CoV-2 Pandemic in Betim, Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 7 fev. 2022a.
- SILVA, J. P. et al. Delta Variant of SARS-CoV-2 Replacement in Brazil: A National Epidemiologic Surveillance Program. **Viruses**, v. 14, n. 5, 1 maio 2022b.
- SILVA, J. DO P. et al. Epidemiological Surveillance Reveals the Rise and Establishment of the Omicron SARS-CoV-2 Variant in Brazil. **Viruses**, v. 15, n. 4, p. 1017, 20 abr. 2023.
- SINTCHENKO V, IREDELL JR, GILBERT GL. Pathogen profiling for disease management and surveillance. **Nat Rev Microbiol.** v. 5, n. 6, jun. 2020.
- SLAVOV, S. N. et al. Genomic monitoring unveil the early detection of the SARS-CoV-2 B.1.351 (beta) variant (20H/501Y.V2) in Brazil. **Journal of Medical Virology**, v. 93, n. 12, p. 6782–6787, 1 dez. 2021a.
- SLAVOV, S. N. et al. Molecular surveillance of the on-going SARS-COV-2 epidemic in Ribeirao Preto City, Brazil. **Elsevier**, v. 93, 21 june. 2021b.
- SLAVOV, S. N. et al. Dynamics of SARS-CoV-2 Variants of Concern in Vaccination Model City in the State of Sao Paulo, Brazil. **Viruses**, v. 14, n. 10, 1 out. 2022.
- STERTZ, S. et al. The intracellular sites of early replication and budding of SARS-coronavirus. **Virology**, v. 361, n. 2, p. 304–315, 10 maio 2007.
- TAKASHITA, E. et al. Efficacy of Antibodies and Antiviral Drugs against Covid-19 Omicron Variant. **New England Journal of Medicine**, v. 386, n. 10, p. 995–998, 10 mar. 2022.
- TEGALLY, H. et al. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. **Nature**, v. 592, n. 7854, p. 438–443, 15 abr. 2021.
- TEYSSOU, E. et al. The SARS-CoV-2 Delta variant has a higher viral load than the beta and historical variants in nasopharyngeal samples from newly diagnosed COVID-19 patients. **J. Infect.**, v. 83, p. e1-e3. 2021.
- TIAN, D. et al. **The Global Epidemic of the SARS-CoV-2 Delta Variant, Key Spike Mutations and Immune Escape.** **Frontiers in Immunology**Frontiers Media S.A., , 30 nov. 2021.
- TOSTA, S. et al. Short Report: Early genomic detection of SARS-CoV-2 P.1 variant in Northeast Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, , 19 july. 2021.
- UMAIR, M. et al. Genomic surveillance reveals the detection of SARS-CoV-2 delta, beta, and gamma VOCs during the third wave in Pakistan. **Journal of Medical Virology**, v. 94, n. 3, p. 1115–1129, 1 mar. 2022.
- VIANA, R. et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. **Nature**, v. 603, n. 7902, p. 679–686, 24 mar. 2022.
- VOLZ, E. et al. Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. **Nature**, v. 593, n. 7858, p. 266–269, 13 maio. 2021.

WINGER, A.; CASPARI, T. **The spike of concern—the novel variants of sars-cov-2.** *Viruses*MDPI, , 1 jun. 2021.

WOLTER, N. et al. Clinical severity of BA.2 Omicron lineage infection compared with BA.1 infection in South Africa. *Lancet*, v. 400, n. 10346, p. 93-96. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. COVID-19 weekly epidemiological update, 25 February 2021, Special ed, 2021. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/339859>> Acesso em: 9 de nov de 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Tracking SARS-CoV-2 variants, 2022. Disponível em: < <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>> Acesso em: 15 de dez de 2022.

WU, D. et al. **The SARS-CoV-2 outbreak: What we know.** *International Journal of Infectious Diseases*Elsevier B.V., , 1 maio. 2020.

XAVIER, J. et al. The ongoing COVID-19 epidemic in Minas Gerais, Brazil: insights from epidemiological data and SARS-CoV-2 whole genome sequencing. *Emerging Microbes & Infections*, v. 9. 2020.

ZHANG, Q. et al. **Molecular mechanism of interaction between SARS-CoV-2 and host cells and interventional therapy.** *Signal Transduction and Targeted Therapy*Springer Nature, , 1 dez. 2021.

ZHU, N. et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, v. 382, n. 8, p. 727–733, 20 fev. 2020.