



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E  
SAÚDE PÚBLICA**

**MATEUS SILVA SANTOS**

---

---

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E MOLECULAR DA VARIANTE OMICRON  
DO SARS-CoV-2 NO ESTADO DO TOCANTINS**

---

---

**Goiânia  
2024**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

### E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

#### 1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação     Tese     Outro\*: \_\_\_\_\_

\*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

#### 2. Nome completo do autor

Mateus Silva Santos

#### 3. Título do trabalho

ESTUDO EPIDEMIOLOGICO E MOLECULAR DA VARIANTE OMICRON DO SARS-CoV-2 NO ESTADO DO TOCANTINS

#### 4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por **Celia Maria De Almeida Soares, Professor do Magistério Superior**, em 06/07/2024, às 00:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Mateus Silva Santos, Discente**, em 08/07/2024, às 11:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4647154** e o código CRC **81BD672C**.

---

**MATEUS SILVA SANTOS**

---

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E MOLECULAR DA VARIANTE OMICRON  
DO SARS-CoV-2 NO ESTADO DO TOCANTINS**

---

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de doutor em Medicina Tropical e Saúde Pública.

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup> Célia Maria de Almeida Soares

**Coorientador:** Ueric José Borges de Souza

**Área de concentração:** Ciências básicas e aplicadas em doenças infecto-parasitárias e saúde pública:  
Microbiologia

**Goiânia  
2024**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Santos, Mateus Silva  
ESTUDO EPIDEMIOLOGICO E MOLECULAR DA VARIANTE  
OMICRON DO SARS-CoV-2 NO ESTADO DO TOCANTINS  
[manuscrito] / Mateus Silva Santos. - 2024.  
84 f.: il.

Orientador: Prof. Celia Maria de Almeida Soares; co-orientador  
Ueric Jose Borges de Souza.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de  
Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Programa de Pós  
Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2024.

Bibliografia. Anexos.

Inclui abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista  
de tabelas.

1. COVID-19. 2. SARS-CoV-2. 3. Omicron. I. Soares, Celia Maria  
de Almeida , orient. II. Título.

CDU 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

**ATA DE DEFESA DE TESE**

**ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MATEUS SILVA SANTOS** - Aos vinte e cinco dias do mês de junho do ano de 2024 (25/06/2024), às 08h00min, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profs. Drs. **CELIA MARIA DE ALMEIDA SOARES (UFG), ALEXANDRE MELO BAILÃO (UFG), MENIRA BORGES DE LIMA DIAS E SOUZA (UFG), LUCAS NOJOSA OLIVEIRA (UFG)** e **WALMIRTON BEZERRA D’ALESSANDRO (UnirG/TO)** para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada por **WEBCONFERÊNCIA**, procederem à avaliação da defesa de tese intitulada: **“ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E MOLECULAR DA VARIANTE OMICRON DO SARS-CoV-2 NO ESTADO DO TOCANTINS”** em nível de DOUTORADO, área de concentração em: **CIÊNCIAS BÁSICAS E APLICADAS EM DOENÇAS INFECTO-PARASITÁRIAS E SAÚDE PÚBLICA: MICROBIOLOGIA**, de autoria de **MATEUS SILVA SANTOS** - discente do **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Orientadora Profa. Dra. **CELIA MARIA DE ALMEIDA SOARES**, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou o Candidato sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra, a seguir, foi concedida ao autor da tese que, em 30 minutos, procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu o Candidato, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1481/2017 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o candidato **Aprovado** ou **Reprovado**:

**Banca Examinadora Aprovado / Reprovado**

Profa. Dra. **Celia Maria de Almeida Soares**     Aprovado    

Prof. Dr. **Alexandre Melo Bailão**     Aprovado    

Profa. Dra. **Menira Borges de Lima Dias e Souza**     Aprovado    

Prof. Dr. **Lucas Nojosa Oliveira**     Aprovado    

Prof. Dr. **Walmirton Bezerra D’Alessandro**     Aprovado    

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou o candidato     Habilitado    , (**Habilitado** ou não **Habilitado**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **DOUTOR EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**, na área de concentração em **CIÊNCIAS BÁSICAS E APLICADAS EM DOENÇAS INFECTO-PARASITÁRIAS E SAÚDE PÚBLICA: MICROBIOLOGIA**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às   10  :h   50   min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de tese e para constar eu, **HELOÍSA DE SOUSA VIEIRA**, secretária do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Menira Borges De Lima Dias E Souza**, Professora do **Magistério Superior**, em 02/08/2024, às 14:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lucas Nojosa Oliveira**, **Usuário Externo**, em 06/08/2024, às 14:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Celia Maria De Almeida Soares**, Professora do **Magistério Superior**, em 07/08/2024, às 12:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Melo Bailao**, Professor do **Magistério Superior**, em 07/08/2024, às 14:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **WALMIRTON BEZERRA D ALESSANDRO**, **Usuário Externo**, em 09/08/2024, às 10:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4714335** e o código CRC **C06B651A**.

Referência: Processo nº 23070.029115/2024-33

SEI nº 4714335

## SUMÁRIO

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	v
RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	2
1. INTRODUÇÃO .....	3
1.1. Considerações gerais da infecção por SARS-CoV-2.....	3
Histórico de pandemias por coronavírus .....	4
1.2.....	4
1.3 Taxonomia e Estrutura viral .....	6
1.4 Ciclo de replicação viral .....	9
1.5 Mecanismos de transmissão.....	11
1.6 Patogênese e resposta imune.....	12
1.7 Manifestações clínicas e laboratoriais da COVID- 19.....	14
1.8 Diagnóstico da COVID-19 .....	16
1.9.....	17
Principais variantes de SARS-CoV-2.....	17
1.10 Ômicron e as sublinhagens .....	18
1.11 .....	21
A realidade da infecção no Tocantins .....	21
2 JUSTIFICATIVA .....	23
3 OBJETIVOS.....	24
3.1 Objetivo geral .....	24
3.2 Objetivos específicos .....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	25
4.1 Tipo e local do estudo.....	25
4.2 Procedimentos éticos .....	25

4.3 Critérios de elegibilidade .....	25
4.3.1 Critérios de inclusão.....	25
4.3.2 Critérios de exclusão .....	25
4.4 Coleta e testagem das amostras.....	26
4.5 Extração e sequenciamento de RNA.....	26
4.6 Análise Comparativa do Genoma .....	27
4.7 Análise filogenética da subvariante XBB.1.18.1 .....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
5.1 Artigo 1: Uma análise abrangente da variante Ômicron do SARS-CoV-2 no estado do Tocantins, Brasil, rastreando a propagação da linhagem XBB.1.18.1.....	31
LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	59
6 CONCLUSÕES GERAIS .....	60
7 RECOMENDAÇÕES .....	61
REFERÊNCIAS .....	62
ANEXO.....	73

## SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

---

<b>μL</b>	<b>Microlitro</b>
<b>μm</b>	<b>Micrometro</b>
<b>CaB</b>	<b>Catepsina B</b>
<b>CaL</b>	<b>Catepsina L</b>
<b>CEP</b>	<b>Comité de Ética em Pesquisa</b>
<b>CONEP</b>	<b>Comissão Nacional de Ética em Pesquisa</b>
<b>COVID-19</b>	<b>Doença infecciosa causada pelo coronavírus SARS-CoV-2</b>
<b>Cq</b>	<b>Ciclo de Quantificação</b>
<b>Ct</b>	<b>Ciclo limiar (Do inglês Ciclo threshold)</b>
<b>ECA 2</b>	<b>Enzima conversora de Angiotensina 2</b>
<b>GISAID</b>	<b>Iniciativa Global de Compartilhamento de Todos os Dados sobre Influenza Aviária e Humana</b>
<b>IgM</b>	<b>Imunoglobulina M</b>
<b>kDa</b>	<b>Quilodalton</b>
<b>LACEN-TO</b>	<b>Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins</b>
<b>MERS-COV</b>	<b>Coronavírus Associado à Síndrome Respiratória do Oriente Médio</b>
<b>PCR</b>	<b>Reação em cadeia da Polimerase</b>
<b>SARS-COV</b>	<b>Síndrome respiratória aguda grave pela infecção do coronavírus</b>
<b>SARS-COV 2</b>	<b>Síndrome respiratória aguda grave pela infecção do coronavírus 2</b>

<b>SRAG</b>	<b>Síndrome respiratória aguda grave</b>
<b>RBD</b>	<b>Domínio de Ligação ao Receptor (Do inglês Receptor Binding Domain)</b>
<b>RNA</b>	<b>Ácido Ribonucleico (Do inglês DeoxyriboNucleic Acid)</b>
<b>RT- LAMP</b>	<b>Amplificação Isotérmica Mediada por Loop com Tanscrição Reversa</b>
<b>RT- qPCR</b>	<b>Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa com Transcrição Reversa em Tempo Real</b>
<b>SES-TO</b>	<b>Secretária Estadual de Saúde do Tocantins</b>
<b>SUS</b>	<b>Sistema Único de Saúde</b>
<b>OMS</b>	<b>Organização Mundial da Saúde</b>
<b>OPAS</b>	<b>Organização Panamericana de Saúde</b>
<b>TMPRSS2</b>	<b>Serino Proteases Transmembrana Tipo II</b>
<b>VOC</b>	<b>Variants of concern (Variante de preocupação)</b>
<b>VOI</b>	<b>Variants of interest (Variante de interesse)</b>
<b>VUM</b>	<b>Variants under monitoring (Variantes sob monitoramento)</b>
<b>WHO</b>	<b>Word Health Organization</b>

## RESUMO

---

**Introdução:** A infecção pelo SARS-CoV-2 associada à COVID-19 é um dos maiores desafios de saúde pública mundial, contribuindo para uma elevada morbimortalidade em diferentes faixas etárias, sendo alguns segmentos populacionais mais afetados. O surgimento de novas variantes do vírus SARS-CoV-2 como a Ômicron, é reflexo de vantagem seletiva, traduzida como maior transmissibilidade e capacidade de se replicar em pessoas previamente expostas ao vírus. No Brasil, a variante teve bastante destaque, mesmo quando os números de indivíduos imunizados já eram altos. Portanto essa pesquisa tem como objetivo promover um estudo epidemiológico e molecular sobre a variante Ômicron do SARS-CoV-2 no estado do Tocantins.

**Métodos:** Estudo caracterizado como transversal analítico, com abordagem quantitativa, realizado mediante as amostras positivas para SARS-CoV-2 do Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins (LACEN-TO). As amostras foram sequenciadas e levadas a experimentos a fim de verificar qualidade do sequenciamento, detectar possíveis mutações e identificar as principais variantes de preocupação. Posteriormente foi realizada análise filogenética de modo a observar o grau de dispersão da variante mais predominante no estado do Tocantins.

**Resultados:** Foi utilizado no presente estudo 556 amostras positivas para variante Ômicron do SARS-CoV-2. Dentre os resultados, foi observado que o estado do Tocantins apresentou, durante o período estudo, cerca de 39 linhagens da variante Ômicron, sendo algumas associadas a uma maior taxa de transmissibilidade. O destaque maior foi para as subvariantes XBB.1.18.1 e XBB.1.5 sendo uma das principais circulantes no Tocantins no ano de 2023. As análises filogenéticas sugerem que o estado possa ter contribuído na dispersão das subvariantes não somente no Brasil como no mundo.

**Conclusões:** Os resultados do presente estudo evidenciaram uma elevada prevalência da variante Ômicron no Tocantins entre dezembro de 2021 e junho de 2023, além de evidenciar que o estado pode ter contribuído para a dispersão da subvariante XBB.1.18.1 no Brasil.

**Relevância e impacto:** É válido ressaltar, que devido à frequência elevada de mutações da variante Ômicron do SARS-CoV-2, é necessária uma vigilância para identificar possíveis novas entradas do vírus não somente no estado norte brasileiro como também em todo o país.

**Palavras chaves:** COVID-19, SARS-CoV-2, Omicron.

## ABSTRACT

---

**Introduction:** SARS-CoV-2 infection associated with COVID-19 is one of the greatest global public health challenges, contributing to high morbidity and mortality in different age groups, with some population segments being more affected. The emergence of new variants of the SARS-CoV-2 virus, such as Omicron, is a reflection of selective advantage, translated as greater transmissibility and the ability to replicate in people previously exposed to the virus. In Brazil, the variant was very prominent, even when the numbers of immunized individuals were already high. Therefore, this research aims to promote an epidemiological and molecular study on the Omicron variant of SARS-CoV-2 in the state of Tocantins. **Methods:** This is an analytical cross-sectional study with a quantitative approach, conducted using SARS-CoV-2 positive samples from the Central Laboratory of Public Health of Tocantins (LACEN-TO). The samples were sequenced and taken to experiments in order to verify the quality of the sequencing, detect possible mutations and identify the main variants of concern. Subsequently, phylogenetic analysis was performed in order to observe the degree of dispersion of the most predominant variant in the state of Tocantins. **Results:** In the present study, 556 samples positive for the Omicron variant of SARS-CoV-2 were used. Among the results, it was observed that the state of Tocantins presented, during the study period, about 39 lineages of the Omicron variant, some of which were associated with a higher transmissibility rate. The biggest highlight was the XBB.1.18.1 and XBB.1.5 subvariants, being one of the main circulating in Tocantins in 2023. Phylogenetic analyses suggest that the state may have contributed to the dispersion of the subvariants not only in Brazil but also in the world. **Conclusions:** The results of the present study showed a high prevalence of the Omicron variant in Tocantins between December 2021 and June 2023, in addition to showing that the state may have contributed to the spread of the XBB.1.18.1 subvariant in Brazil. **Relevance and impact:** It is worth noting that due to the high frequency of mutations of the Omicron variant of SARS-CoV-2, surveillance is necessary to identify possible new entries of the virus not only in the northern Brazilian state but also throughout the country.

**Keywords:** COVID-19, SAR-CoV-2, Omicron.

# 1. INTRODUÇÃO

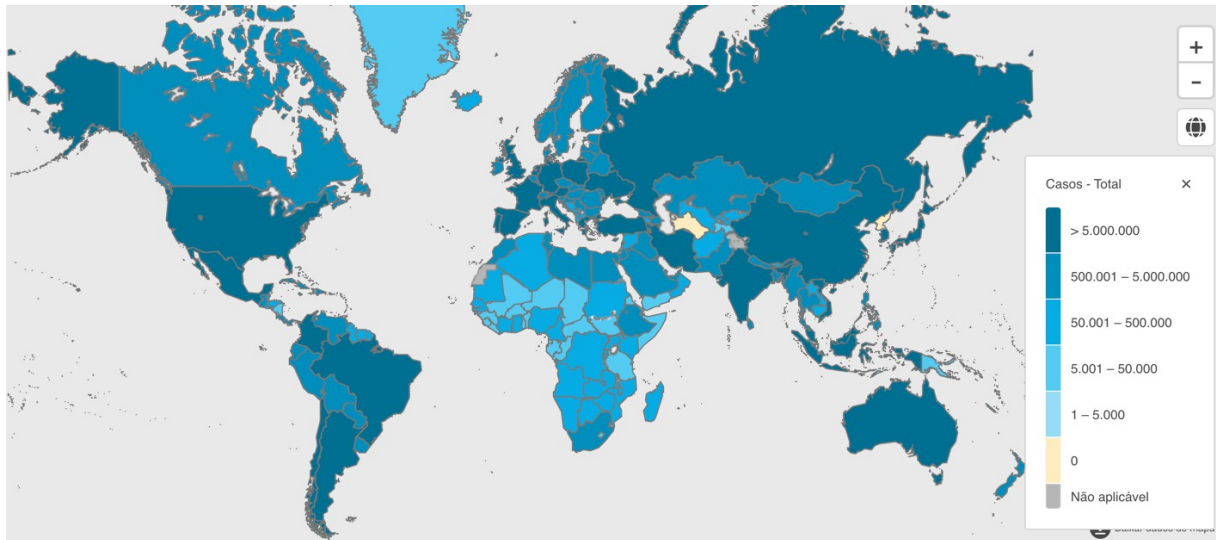
---

## 1.1. Considerações gerais da infecção por SARS-CoV-2

O *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2), é um vírus altamente infeccioso que causa a doença Coronavirus Disease 19 (COVID-19). O vírus foi identificado pela primeira vez em dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, na China, e desde então se espalhou rapidamente pelo mundo. Acredita-se que o vírus tenha se originado em morcegos, mas a forma como ele foi transmitido aos seres humanos ainda não está clara (Zhou et al., 2020). Alguns estudos sugerem que o mercado de frutos do mar em Wuhan pode ter desempenhado um papel na disseminação inicial do vírus. No entanto, outros estudos mostram que muitas das primeiras pessoas infectadas não tinham conexão com o mercado, o que sugere que o vírus já estava circulando na comunidade (Li et al., 2020).

Independente de sua origem, a doença se espalhou rapidamente, tornando-se responsável pela pandemia de COVID-19, sobrecarregando os sistemas de saúde, além de requerer importantes medidas de contenção e saneamento, como quarentenas entre países e cidades ao redor do mundo (Radermecke et al., 2020), a rápida disseminação do SARS-CoV-2 foi facilitada pela globalização e pelos padrões modernos de viagem. Desde a sua descoberta, o vírus se espalhou para todos os continentes e causou milhões de mortes em todo o mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), até o final de maio de 2024, cerca de 775 milhões de casos foram confirmados e aproximadamente 7 milhões de óbitos confirmados (Figura 1).

A COVID-19 é um dos maiores desafios de saúde pública mundial, contribuindo para uma elevada carga de doença e morte em diferentes faixas etárias, além dos casos de agravamento com comorbidades, como câncer, doenças cardiopulmonares, renais, entre outras (Afonso et al., 2021). Apesar de mais de 13 bilhões de doses das vacinas já terem sido ofertadas (OMS, 2023), ainda assim rotineiramente ocorrem novos casos da infecção por todos os países do mundo.



**Figura 1.** Visão geral do número de casos de COVID-19 até maio de 2024

**Fonte:** OMS, 2024

## 1.2. Histórico de pandemias por coronavírus

O primeiro coronavírus humano (HCoV), cepa B814, foi isolado em 1965 da secreção nasal de um paciente com resfriado comum. Desde então, mais de 30 cepas adicionais foram identificadas. Entre eles, o corante prototípico HCoV-229E (nomeado em homenagem a uma amostra de estudante codificada 229E) foi isolado usando cultura de tecidos padrão. O HCoV-OC43 (Cultura de Órgãos 43) foi posteriormente recuperado usando cultura de órgãos traqueais e considerado sorologicamente distinto do HCoV-229E (Liu; Liang; Fung, 2021).

Em 2002-2003, O SARS-CoV-1 foi o primeiro vírus SARS a ser identificado em humanos e foi responsável por uma epidemia global em 2002-2003, com um com um percentual de letalidade de 7%, infectando aproximadamente cerca de 8.000 pessoas (Quintela et al., 2020). O vírus foi transmitido de morcegos para seres humanos em um mercado de animais em Guangdong, China. O surto se espalhou rapidamente para outros países, incluindo o Canadá, onde ocorreram várias mortes (Peiris et al., 2003). Desde então não houve mais relatos de óbitos.

Após o período da introdução do SARS-CoV, outros dois HCoV foram identificados. O HCoV-NL63 (Holanda 63) foi isolado do aspirado de uma criança de 7 meses com bronquiolite em 2004, enquanto o HCoV-HKU1 (Universidade de Hong Kong 1) foi isolado de um paciente de Hong Kong com pneumonia em 2005 (Liu; Liang; Fung, 2021). Desde então, outros dois novos vírus surgiram. O Middle East Respiratory Syndrome (Da sigla em inglês MERS), foi identificado pela primeira vez na Arábia Saudita em 2012 e desde então se espalhou

para outros países do Oriente Médio, bem como para a Ásia, Europa e América do Norte (Quintela et al., 2020). Com 2.494 casos confirmados e letalidade de 34% a doença não apresenta tratamento específico e o seu índice de transmissibilidade é inferior, se comparado com os SARS-CoV (WHO, 2023). Ao contrário do SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2 que estão associados a doenças respiratórias graves, os quatro HCoV's comuns (229E, OC43, NL63 e HKU1) geralmente causam doenças leves a moderadas do trato respiratório superior, presumivelmente contribuindo para 15%–30% dos casos de resfriados comuns em humanos (Liu; Liang; Fung, 2021).

Em dezembro de 2019, o mundo enfrentou um problema causado pelo SARS-CoV-2, que é diferente do coronavírus MERS. A pandemia de COVID-19 começou na cidade de Wuhan, na China, quando um grande número de casos de pneumonia de causa desconhecida foi relatado. Em 31 de dezembro de 2019, as autoridades chinesas notificaram a OMS sobre o surto, e em janeiro de 2020 estudos associados a estrutura e expressão viral demonstraram o potencial risco que esse patógeno poderia trazer a saúde humana (Nerli et al., 2020; Zou et al., 2020). Em 11 de março de 2020, a OMS declarou oficialmente a pandemia global. Desde então, o vírus se espalhou rapidamente pelo mundo, afetando milhões de pessoas e causando milhões de mortes.

A epidemiologia do SARS-CoV-2 é complexa e em constante mudança, mas há algumas informações importantes que podemos destacar. O vírus é transmitido principalmente através do contato próximo com uma pessoa infectada, seja através de gotículas respiratórias ou pelo contato com superfícies contaminadas. A transmissão pode ocorrer mesmo a partir de pessoas assintomáticas, o que torna a prevenção e o controle da doença um desafio.

No início de fevereiro de 2020, com a propagação da epidemia pelo novo coronavírus, já se tinha mais de 31.000 pessoas infectadas e 640 mortes confirmadas (Coutard et al., 2020). Em 11 de março daquele ano, o diretor-geral da OMS decretou estado de emergência em relação a COVID-19, sendo caracterizada como uma pandemia, visto que mais de 176 países tinham sido afetados com o novo vírus (Banerjee et al., 2020). A partir de então, a expansão do vírus se descontrolou e se instalou um caos mundial.

O primeiro caso de COVID-19 no Brasil foi confirmado em 26 de fevereiro de 2020, em São Paulo. O paciente era um homem de 61 anos que havia viajado para a Itália, um país que já estava enfrentando uma grande epidemia na época. O homem começou a apresentar sintomas da doença após seu retorno ao Brasil e foi internado em um hospital particular em São Paulo (Pereira et al., 2020). O primeiro caso de óbito por COVID-19 no Brasil foi registrado em 17 de março de 2020, em

São Paulo. A vítima era um homem de 62 anos que tinha histórico de diabetes e hipertensão, fatores que podem ter contribuído para a gravidade da doença em seu caso (Ministério da Saúde, 2020). O primeiro óbito por COVID-19 no Brasil foi um alerta para a gravidade da doença e para a importância das medidas de prevenção e controle.

Atualmente a infecção continua sendo uma realidade preocupante em todo o mundo. Desde o início da pandemia, mais de 775 milhões de casos já foram confirmados em todo o mundo, com mais de 7 milhões de mortes registradas até o momento (OMS, 2024). Alguns países têm sido particularmente afetados pela pandemia (Tabela 1). Os Estados Unidos lideram o ranking de casos e mortes, sendo destaque também países como a China, Índia, Alemanha e Brasil. A vacinação tem sido uma ferramenta importante na luta contra a COVID-19, e muitos países têm trabalhado para garantir que suas populações estejam protegidas contra a doença.

**Tabela 1.** Números de casos confirmados e óbitos por COVID-19 até 03 de abril de 2024.

CASOS		ÓBITOS	
PAÍS	NÚMEROS	PAÍS	NÚMEROS
Estados Unidos	103.436.829	Estados Unidos	1.127.152
China	99.411.610	<b>Brasil</b>	<b>704.659</b>
Índia	45.948.525	Índia	532.031
França	39.237.490	Rússia	400.023
Alemanha	38.437.756	México	334.586
<b>Brasil</b>	<b>37.720.419</b>	Reino Unido	229.307
Coreia do Sul	34.571.873	Peru	221.465
Japão	33.803.572	Itália	191.469
Itália	26.007.789	Alemanha	174.979
Reino Unido	24.715.857	França	167.985

Fonte: OMS, 2024.

### 1.3 Taxonomia e Estrutura viral

O coronavírus pertence ao domínio *Riboviria*, reino *Orthornavirae*, filo *Pisuviricota*, classe *Pisoniviricetes*, ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae*, subfamília *Orthocoronavirinae*. Essa subfamília possui quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* (Schoch et al., 2020; ICTV, 2022).

Os coronavírus são vírus envelopados, com genoma composto por uma molécula de RNA, fita simples, não segmentado, de polaridade positiva. As partículas virais são esféricas, embora pleomórficas, com aproximadamente 80220 nm (Chan et al., 2020). O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA não segmentado de fita simples e polaridade positiva, variando de 26 a 32 Kb de comprimento envolto por um capsídeo protéico (nucleocapsídeo N) (Li et al., 2020). A estrutura do vírus é composta por várias partes, incluindo um envelope lipídico formado pela proteína de membrana (M) e do envelope (E), além de poder conter duas diferentes espículas: a glicoproteína S (presente em todos os coronavírus) e hemaglutinina esterase, presente em alguns coronavírus (Figura 2) (Walls et al., 2020).

O RNA genômico apresenta Cap na extremidade 5', é poliadenilado e possui duas Regiões Não Traduzidas (UTRs) nas extremidades 5' e 3'. Logo após a 5' UTR, ocupando cerca de dois terços do genoma, estão as Open Reading Frames (ORFs) 1a e 1b, que são traduzidas nas poliproteínas pp1a e pp1ab, precursoras de 16 proteínas não estruturais, envolvidas na transcrição e replicação do vírus. O restante do genoma codifica para as proteínas estruturais M, E, N e S, além de pelo menos seis proteínas acessórias (Helmy et al., 2020; Li et al., 2020).

A proteína M (~25-30 kDa) com três domínios transmembrana (Armstrong et al., 1984), é a proteína estrutural mais abundante e define a forma do envelope viral (Neuman et al., 2011). Possui um pequeno ectodomínio glicosilado N-terminal e um endodomínio C-terminal muito maior que se estende 6–8 nm na partícula viral (Nal et al., 2005). A proteína M existe como um dímero e pode adotar duas conformações diferentes, permitindo-lhe promover a curvatura da membrana, bem como se ligar ao nucleocapsídeo. A interação de S com a proteína M é necessária para retenção de S no compartimento intermediário ER-Golgi (ERGIC)/complexo de Golgi e sua incorporação em novos vírions, mas não é necessário para o processo de montagem (Fehr; Perlman, 2015). A ligação da proteína M à proteína N estabiliza o nucleocapsídeo (complexo proteína N-RNA), bem como o núcleo interno dos vírions e, em última análise, ajuda a completar a montagem viral.

A proteína E (~8–12 kDa) é a menor das principais proteínas estruturais. Esta proteína transmembrana possui um ectodomínio N-terminal e um endodomínio C-terminal com atividade de canal iônico. Durante o ciclo de replicação, essa proteína é abundantemente expressa dentro da célula infectada, mas apenas uma pequena porção é incorporada ao envelope do vírus (Venkatagopalan et al., 2015). A maior parte da proteína participa da montagem e brotamento viral (Nieto-Torres et al., 2011). Foi demonstrado que CoVs recombinantes sem E exibem significativamente títulos virais reduzidos, maturação viral

prejudicada ou produção de progênie incompetente, demonstrando assim a importância da proteína E na produção e maturação do vírus (DeDiego et al., 2007).

A proteína N é a única que se liga ao genoma do RNA. A proteína é composta por dois domínios separados, um domínio N-terminal (NTD) e um domínio C-terminal (CTD). Foi sugerido que a ligação ideal ao RNA requer a contribuição de ambos os domínios (Chang et al., 2006). Ele também está envolvido na montagem e brotamento viral, resultando na formação completa do virion (Tooze; Tooze; Warren, 1984).

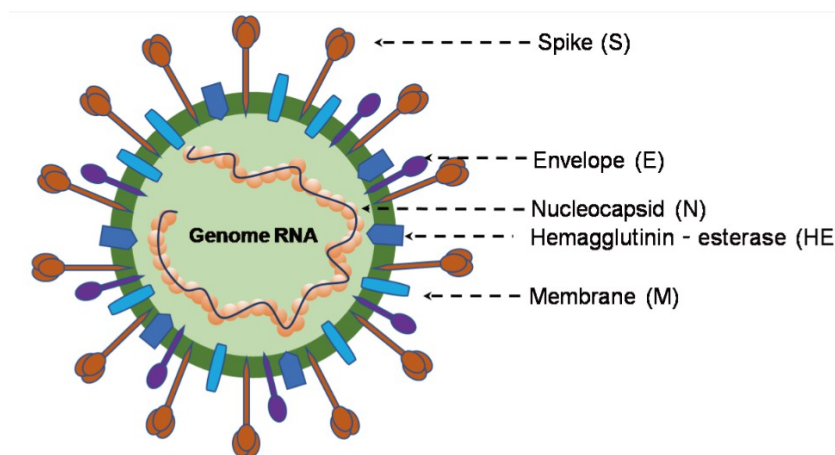
A proteína S é composta por duas subunidades: a subunidade S1 N-terminal, que contém um domínio de ligação ao receptor RBD (do inglês "Receptor Binding Domain" ou Domínio de Ligação ao Receptor) o qual se engaja com o receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2), presente em células de diferentes órgãos e tecidos, principalmente em células epiteliais alveolares humanas, células do trato gastrointestinal e sistema renal. (Ronco et al., 2020). A proteína S de alguns coronavírus é clivada nas subunidades S1 e S2 durante sua biossíntese nas células infectadas, enquanto a proteína S de outros coronavírus é clivado somente quando atingem o próximo alvo. O SARS-CoV-2, assim como o MERS-CoV, pertence ao primeiro categoria: sua proteína S é clivada por proteíase convertases como a furina nas células produtoras de vírus (Hoffmann et al., 2020; Shang et al., 2020).

Portanto, a proteína S no vírion maduro consiste em duas subunidades associadas não covalentemente: a subunidade S1 liga ACE2 e a subunidade S2 ancora a proteína S para a membrana. A subunidade S2 também inclui um peptídeo de fusão e outras máquinas necessárias para mediar fusão da membrana após infecção de uma nova célula (Fehr; Perlman, 2015). A proteína S utiliza uma sequência de sinal N-terminal para obter acesso ao retículo endoplasmático (ER) e é fortemente glicosilada ligada a N. Os homotrímeros da proteína S codificada pelo vírus constituem a estrutura distinta em forma de espícula (Delmas; Laude, 1990; Beniac et al., 2006). Entre as regiões S1 e S2, encontram-se os sítios de clivagem, que podem sofrer ação de determinadas proteases celulares, de acordo com o tipo de coronavírus (Helmy et al., 2020).

O domínio RBD é composto por cerca de 200 aminoácidos e apresenta uma conformação tridimensional específica que permite a ligação com alta afinidade ao receptor ECA2. Estudos mostraram que mutações no domínio RBD podem alterar a afinidade do vírus pelo receptor e, conseqüentemente, afetar a transmissibilidade e patogenicidade do SARS-CoV-2 (Zhou et al., 2020). Além disso, a análise de sequências genômicas de diferentes isolados do SARS-CoV-2 revelou que o domínio RBD apresenta uma alta taxa de evolução em comparação com outras regiões da proteína S. Isso sugere que o domínio RBD pode ser

um alvo em constante evolução para a seleção natural do vírus (Li et al., 2020).

Em ambos os casos, a proteína S do SARS-CoV liga-se à peptidase de zinco humana ACE2, que é expressa em vários tecidos, como células pulmonares, cardíacas, renais e intestinais. Ambas as subunidades S1 do terminal N e C contêm o RBD, enquanto a subunidade S2 do terminal C é necessária para a trimerização do pico e a fusão da membrana vírus-hospedeiro. A protease hospedeira ligada à membrana TMPRSS2 é responsável pela ativação do sítio S2 para mudanças conformacionais e entrada viral (Tagde et al., 2021; Goyal et al., 2022).



**Figura 2.** Representação esquemática da estrutura do vírus SARS-CoV-2.

**Fonte:** Li et al., 2020 (Adaptado)

#### 1.4 Ciclo de replicação viral

A infecção se inicia com a ligação da glicoproteína S do vírus a proteína ACE2 da célula hospedeira (Figura 3). Por endocitose, o vírus entra na célula e depois libera seu material genético que, por sua vez, é reconhecido pela maquinaria da célula como próprio material. Em seguida, a RNA polimerase dependente de RNA específica do vírus é produzida, a RdRp, também conhecida como nsp12. (Pereira et al., 2021).

Além da ligação ao receptor, a clivagem proteolítica das proteínas S do coronavírus pelas proteases derivadas da célula hospedeira é essencial para permitir a fusão (Gierer et al., 2013; Matsuyana et al., 2010). Foi demonstrado que o SARS-CoV usa a serina protease da superfície celular TMPRSS2 para priming e entrada, embora as cisteínas proteases endossômicas catepsina B (CatB) e CatL também possam auxiliar nesse processo (Simmons et

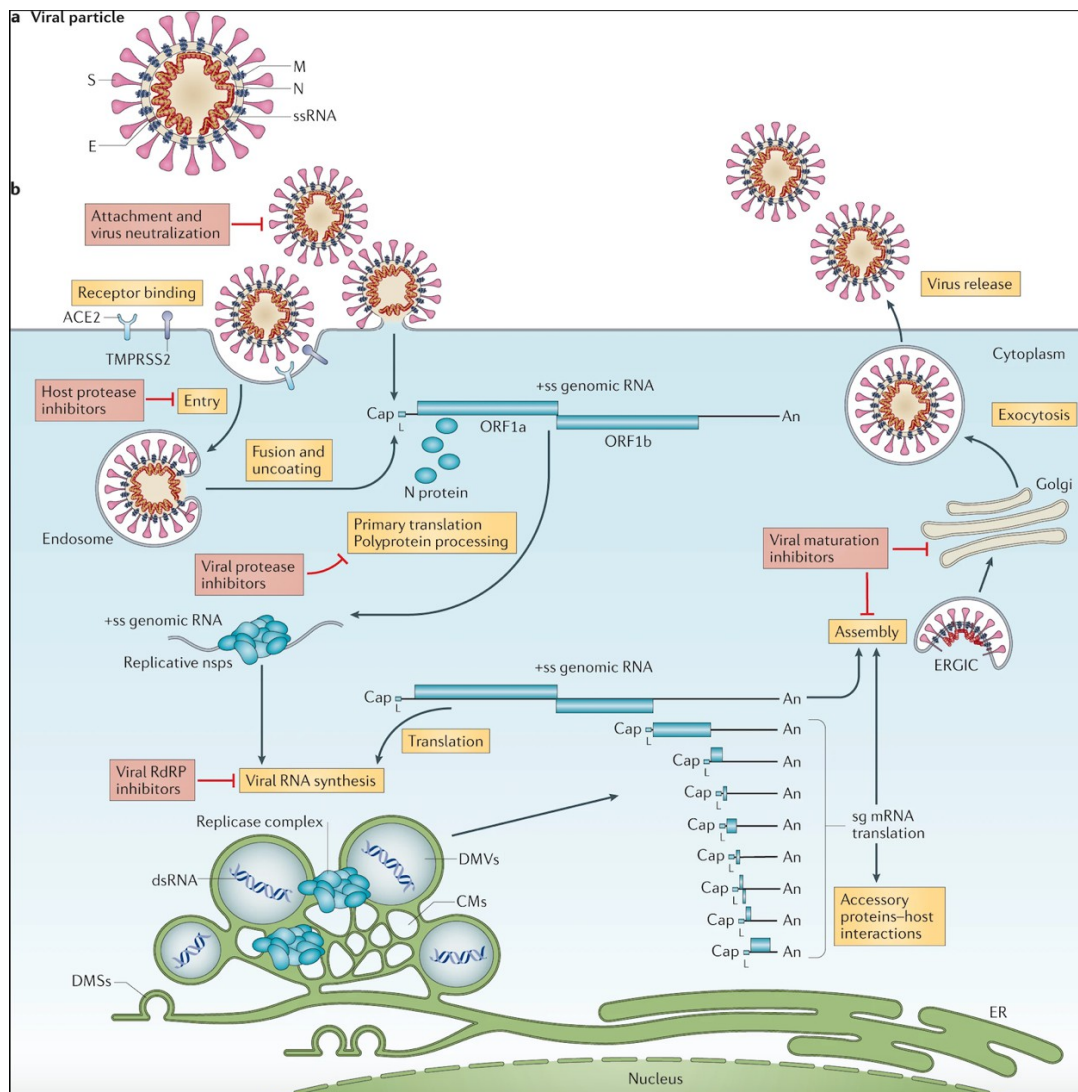
al., 2005; Belouzard et al., 2009; Matsuyana et al., 2010; Gierer et al., 2013; Ou et al., 2020). Concordantemente, a inibição simultânea de TMPRSS2, CatB e CatL previne eficientemente a entrada do SARS-CoV em culturas celulares *in vitro* (Kawase et al., 2012).

O TMPRSS2 é expresso no trato respiratório humano e, portanto, contribui fortemente para a disseminação e patogênese do SARS-CoV. Notavelmente, a entrada do SARS-CoV-2 depende principalmente do TMPRSS2 e não do CatB e CatL, uma vez que a inibição do TMPRSS2 foi suficiente para impedir a entrada do SARS-CoV-2 nas linhas celulares pulmonares e nas células pulmonares primárias (Hoffman et al., 2020; Shang et al., 2020).

Após a entrada, a liberação e remoção do RNA genômico que chega submete-o à tradução imediata de dois grandes quadros de leitura abertos, ORF1a e ORF1b. As poliproteínas resultantes ppla e pplab são processadas co-tradução e pós-tradução nas proteínas não estruturais individuais (nsps) que formam o complexo de replicação e transcrição viral. Concordante com a expressão de nsps, a biogênese de organelas de replicação viral que consistem em vesículas perinucleares de membrana dupla (DMVs), membranas enroladas (CMs) e pequenas esférulas abertas de membrana dupla (DMSs) criam um microambiente protetor para replicação de RNA genômico viral e transcrição de mRNAs subgenômicos (mRNAs sg) compreendendo o conjunto aninhado característico de mRNAs de coronavírus.

As ORFs que codificam as proteínas estruturais estão localizadas no terço 3' dos genomas do coronavírus. Intercaladas entre essas ORFs estão as ORFs que codificam as chamadas proteínas acessórias. As proteínas estruturais do SARS-CoV-2 ainda não foram avaliadas em termos do seu papel na montagem e brotamento do vírus. Em geral, as proteínas estruturais do coronavírus montam e auxiliam no surgimento de novos vírions no compartimento do retículo endoplasmático (RE) ao Golgi, que são sugeridos para saírem da célula infectada por exocitose (de Hann et al., 2005; Stertz et al., 2007; Klein et al., 2020). No entanto, evidências recentes mostram que os betacoronavírus, incluindo o MHV e o SARS-CoV-2, emigram bastante das células infectadas através da via do tráfico lisossomal (Ghosh et al., 2020).

Depois, a replicase transcreve todo o segmento de RNA fita positiva em uma fita de RNA complementar, negativa, que serve como um modelo para um conjunto de RNAs subgenômicos (sgRNAs) que serão traduzidos em componentes estruturais do vírus ou ainda, simultaneamente, como molde para a replicação do genoma total do vírus, utilizado para formar o material genético da nova partícula viral. Os vírions maduros são transportados por vesículas até a periferia celular e liberados por exocitose (V'kovski et al., 2021).



**Figura 3.** Diagrama esquemático do ciclo de replicação do coronavírus

**Fonte:** (V'kovski et al., 2021)

### 1.5 Mecanismos de transmissão

A transmissão do SARS-CoV-2 pode ocorrer através do contato direto, indireto ou próximo com pessoas infectadas através de secreções como saliva e secreções respiratórias ou de suas gotículas, que são expelidas quando uma pessoa infectada tosse, espirra, fala ou canta (Liu et al., 2020). As gotículas respiratórias têm um diâmetro  $>5-10 \mu\text{m}$ , ao passo que as gotículas com um diâmetro  $<5 \mu\text{m}$  são conhecidas como aerossóis (WHO, 2020; Harrison et al., 2020). Os procedimentos que geram aerossóis são: intubação, aspiração por sistema aberto, traqueostomia, ventilação não invasiva, nebulização, ressuscitação cardiopulmonar, coleta de amostra nasotraqueal e desconexão do paciente no ventilador (Amib, 2020).

Outras formas de transmissão também são evidenciadas, sendo a mucosa conjuntival é uma importante porta de entrada para o SARS-CoV-2 e outros vírus respiratórios. A conjuntivite ocasionada por essa forma de transmissão é uma manifestação clínica já relatada anteriormente (Scalinci; Battagliola, 2020). A transmissão por contato indireto envolvendo o contato de um hospedeiro suscetível com um objeto ou superfície contaminada (transmissão por fômites) também é possível (Chen et al., 2020). De forma rara, a transmissão vertical pode ocorrer, embora conhecidamente a IgM não atravesse a barreira transplacentária. Há relatos de positividade nasofaríngea precoce no teste de PCR, após o parto em recém-nascidos e também casos de infecção placentária por SARS-CoV-2. Além disso, o leite materno pode abrigar RNA viral, embora nenhuma transmissão confirmada para bebês a partir do leite materno tenha sido relatada (Meyerowitz et al., 2021).

Alguns estudos relataram a detecção de RNA do SARS-CoV-2 no plasma ou soro, e o vírus pode se replicar em células sanguíneas. No entanto, o papel da transmissão pelo sangue continua incerto; e títulos virais baixos no plasma e no soro sugerem que o risco de transmissão por essa via pode ser baixo (Chang et al., 2020; Wang et al., 2020). O RNA do SARS-CoV-2 também foi detectado em outras amostras biológicas, incluindo urina e fezes de pacientes (Guan et al., 2019; Pan et al., 2020; Wang et al., 2020; Wu et al., 2020; Zheng et al., 2020). A presença de SARS-CoV-2 na urina de um paciente também já foi relatada (Sun et al., 2020). No entanto, até o presente momento, não está comprovada a transmissão do SARS-CoV-2 por fezes ou urina.

## **1.6 Patogênese e resposta imune**

Acredita-se que a gravidade da doença decorrente da infecção pelo vírus esteja relacionada a vários fatores virais e do hospedeiro. Dentre os fatores associados ao hospedeiro destacam-se a idade, presença de comorbidades como hipertensão, diabetes e doença cardiovascular, além da resposta imunológica, que em diversos estudos evidenciam que pacientes com COVID-19 grave tendem a ter uma resposta imunológica desregulada, com níveis mais altos de citocinas pró-inflamatórias e menor número de células T reguladoras, sendo esses fatores associados ao aumento do número de hospitalizados e maiores taxas de mortalidade (Huang et al., 2020; Mehta et al., 2020).

A infecção inicial por SARS-CoV-2 começa com a entrada do vírus nas células humanas através das vias respiratórias (Zou et al., 2020). A infecção se estabelece primariamente no trato respiratório superior, infectando as células epiteliais da mucosa da orofaringe. O período de incubação estimado, agregando a cepa selvagem e as variantes é de

aproximadamente 6,57 dias (Wu et al., 2022).

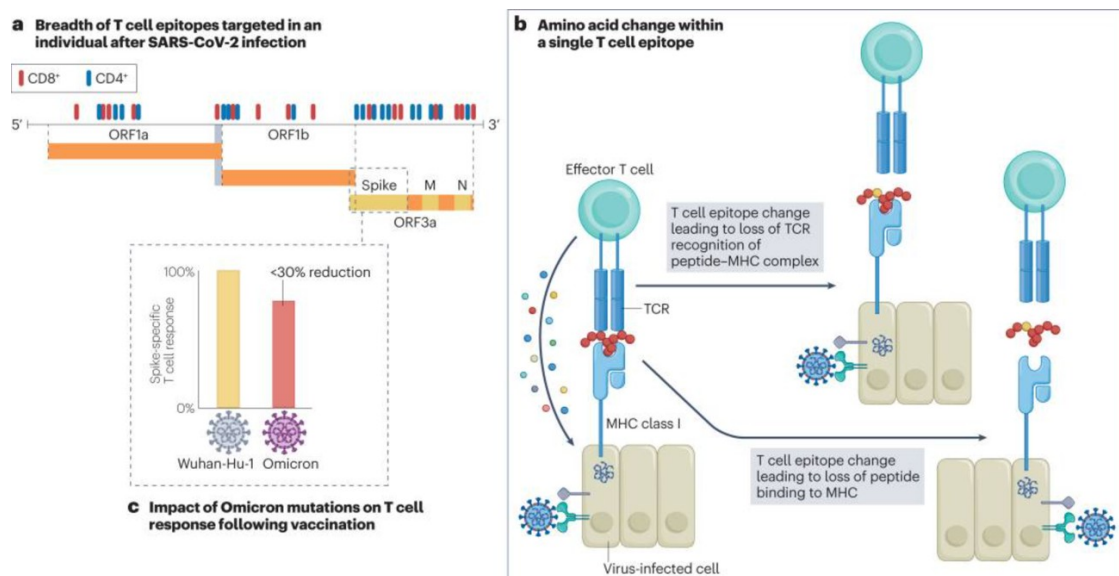
O principal órgão-alvo do SARS-CoV-2 são os pneumócitos II encontrados no tecido pulmonar. Pacientes com formas graves da doença apresentam-se ao hospital com sintomas de hipoxemia, ventilação, difusão ou hipoperfusão pulmonar associada à Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) (Chen et al., 2020). A COVID-19 induz liberação e elevação de citocinas inflamatórias, levando à infiltração de células inflamatórias no sistema pulmonar, edema intersticial, danos e destruição do parênquima pulmonar. Histologicamente, o dano alveolar difuso está fortemente associado à fase aguda da infecção (Moitinho et al., 2020).

Com base na análise de conjuntos de dados de sequenciamento de RNA de célula dos principais sistemas fisiológicos humanos, os órgãos considerados mais suscetíveis à infecção por coronavírus, devido aos seus níveis de expressão de ACE2, incluem os pulmões, coração, esôfago, rim, bexiga e íleo (Zou et al. 2020).

Embora o órgão alvo da COVID-19 seja o pulmão, outros órgãos podem ser envolvidos na patologia, como exemplo os rins. O vírus tem acesso aos rins pela corrente sanguínea a partir da circulação pulmonar, causando danos às células renais. Já foi demonstrada a presença do novo coronavírus tanto em podócitos como em células dos túbulos proximais renais (Hirsch et al., 2020).

Dado o papel integral das células T na imunidade ao SARS-CoV-2, existe potencial para que a pressão seletiva leve ao escape das células T, embora a extensão em que as mutações do SARS-CoV-2 afetam essas células seja atualmente pouco compreendida. As respostas funcionais das células T são dirigidas contra múltiplas proteínas virais, com a magnitude da resposta correlacionada com os níveis de expressão da proteína viral (Tarke et al., 2021).

As respostas à proteína spike, N e M são dominantes, com respostas apreciáveis também observadas contra ORF3a e as proteínas não estruturais do vírus: NSP3 e NSP12. Como a resposta das células T tem como alvo epítomos em todo o genoma do SARS-CoV-2, as pegadas do escape das células T são mais amplamente distribuídas do que as alterações causadas por anticorpos, que estão concentradas nos epítomos dominantes da proteína spike (Figura 4) (Agerer et al., 2021). Poucos estudos documentaram a evolução intra-hospedeiro dentro dos epítomos das células T, o que serviria como evidência direta do escape das células T.



**Figura 4.** Impacto potencial das variantes do SARS-CoV-2 nas respostas das células T e na imunidade inata

**a)** Após a infecção por coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), as respostas das células T CD4 + e das células T CD8 + são geradas contra 30-40 epítopos em todo o genoma do vírus. **b)** Um exemplo de como uma alteração de aminoácidos dentro de um epítipo pode impactar as respostas de células T citotóxicas específicas do epítipo, inibindo assim a eliminação de células infectadas por vírus (de Silva et al., 2021). Foi demonstrado que a evasão de células T do SARS-CoV-2 é a consequência da ligação prejudicada do peptídeo ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC) ou da má ligação do receptor de células T (TCR) ao complexo peptídeo-MHC. **c)** Embora a resposta das células T à vacinação se concentre apenas na proteína spike, mesmo as múltiplas mutações spike na variante Omicron preocupante reduzem a resposta das células T específicas da espícula induzida pela vacina apenas em menos de 30%, com considerável variabilidade interindividual (Tarke et al., 2022; Gao et al., 2022).

**Fonte:** Carabelli et al., (2023)

## 1.7 Manifestações clínicas e laboratoriais da COVID- 19

A infecção por SARS-CoV-2 pode ser assintomática, embora os índices de pacientes que permanecem verdadeiramente assintomáticos durante o curso da infecção seja variável e incompletamente definida. A percentagem de indivíduos que apresentam infecção assintomática e evoluem para doença clínica não é clara. Foi relatado que alguns indivíduos assintomáticos apresentam achados radiográficos objetivos consistentes com pneumonia por COVID-19 (Zhang et al., 2020; Inui et al., 2020).

Quando sintomática, os sinais e sintomas clínicos associados à COVID-19 podem ser divididos em quadros leves, moderados e graves. Pacientes com a forma leve da doença podem apresentar uma variedade de sinais e sintomas como: febre, tosse, fadiga, cefaléia, náuseas, vômitos, perda do paladar e do olfato, dispnéia, mialgia, mal-estar, sonolência, tremor,

confusão mental, dor de garganta, dor abdominal e diarreia (Siracusano et al., 2020). A maioria dos pacientes com doença leve pode ser tratada em ambulatório ou em casa. Nenhum exame de imagem ou avaliação laboratorial específica é indicado rotineiramente em pacientes saudáveis com COVID-19 leve (Skarbinski et al., 2022).

Alguns pacientes apresentam doença mais graves que requerem cuidados hospitalares, incluindo sintomas de pneumonia grave e complicações como a SDRA, edema pulmonar, insuficiência pulmonar, lesão renal aguda, disfunção de múltiplos órgãos, podendo evoluir para a morte. Dentre as características clínico-patológicas comuns em pacientes com COVID-19, pode-se observar a presença de linfopenia, fato este que pode estar relacionada à apoptose de linfócitos e aos infiltrados inflamatórios mononucleares intersticiais nos tecidos pulmonares (Siracusano et al., 2020, Radermecke et al., 2020, Pereira, et al., 2020).

Os sintomas mais frequentes em pacientes hospitalizados com COVID-19 foram febre, tosse seca e fadiga. Outros sintomas menos comuns incluíram falta de ar, dor de cabeça, dores musculares e diarreia, dentre outros (Wu et al., 2020). Além disso, é importante ressaltar que a COVID-19 pode afetar diferentes órgãos do corpo humano, como o coração, os pulmões, o fígado e os rins. Em alguns casos, a doença pode levar à SRAG e à insuficiência respiratória, que podem ser fatais. Também têm sido frequentemente associadas a falência de órgãos e morte dos pacientes gravemente enfermos (Radermecke et al., 2020).

A avaliação inicial dos pacientes pode incluir imagens de tórax (por exemplo, radiografia, ultrassonografia ou tomografia computadorizada) e eletrocardiograma, se indicado. Os exames laboratoriais devem incluir hemograma completo com perfil diferencial e metabólico, incluindo testes de função hepática e renal. Embora marcadores inflamatórios como proteína C reativa (PCR), dímero D e ferritina não sejam medidos rotineiramente como parte do tratamento padrão, os resultados dessas medições podem ter valor prognóstico (Tan et al., 2020; Berger et al., 2020; Casas-Rojo et al., 2020; Smilowitz et al., 2021).

As anormalidades laboratoriais mais comuns em pacientes são: leucopenia, linfopenia, neutrofilia, transaminases hepáticas elevadas, trombocitopenia e elevação da creatinina sérica (em estados mais graves). Os marcadores de fase aguda (como processo inflamatório) começam a aumentar de acordo com a resposta orgânica à infecção. Alguns pacientes apresentam, ainda, hipoalbuminemia, pois a albumina encontra-se diminuída na maioria das reações de fase aguda geradas por processo inflamatório. Outros analitos também podem sofrer alteração na concentração sanguínea em resposta a uma reação de fase aguda, mas não fazem parte do painel de emergência e urgência (Guan et al., 2020). Nessa fase, podemos observar igualmente um início de alteração no Dímero-D, pois a codificação de algumas proteínas não

estruturais pelo RNA<sup>+</sup> do vírus pode prejudicar a estrutura eritrocitária (o que estimula a coagulação intravascular disseminada) e da hemoglobina, retirando o átomo de ferro necessário para o transporte de oxigênio (Junior; Lourenço, 2020).

## 1.8 Diagnóstico da COVID-19

A RT-PCR é o método padrão ouro para diagnóstico laboratorial da COVID-19, esse método combina a transcrição reversa do RNA em DNA complementar (cDNA) com a amplificação de alvos específicos de DNA, tem sido usada como técnica laboratorial quantitativa (Fronhoffs et al., 2002). No caso da detecção da presença do vírus RNA por meio de RT-PCR, a DNA polimerase dependente de RNA é utilizada para a transcriptase reversa. Pequenos iniciadores de sequência de DNA são projetados para direcionar e agrupar sequências complementares específicas do genoma do vírus específico no processo de detecção inercial. Como resultado, e utilizando DNA polimerase dependente de RNA, são produzidas cópias de cDNA. Na RT-PCR, esta amplificação é monitorizada utilizando vários corantes fluorescentes ou sondas de DNA marcadas com moléculas fluorescentes que têm como alvo uma parte específica do genoma (Tombuloglu et al., 2020). O RT-PCR pode ser usado como um processo de uma etapa ou como um processo de duas etapas. Geralmente, o procedimento de RT-PCR de uma etapa é preferido para detecção de vírus porque toda a reação é realizada em um único tubo com os primers e reagentes no procedimento de uma etapa. Isto torna-o relativamente menos complicado, requer menos tempo e diminui a possibilidade de erros ou contaminação. Ao mesmo tempo, o procedimento em duas etapas é muito mais flexível e proporciona maior sensibilidade.

O uso de RT-LAMP (amplificação isotérmica mediada por loop) para o diagnóstico precoce de COVID-19 ganhou recentemente popularidade em laboratórios clínicos (Mori e Notomi, 2009; Bokelmann et al., 2021). As abordagens diagnósticas baseadas na tecnologia RT-LAMP podem detectar vírus SARS-CoV-2 em esfregaços ou saliva sem a necessidade de uma etapa de extração de RNA. Para executar o ensaio RT-LAMP, é essencial empregar primers que foram projetados principalmente para serem compatíveis com a região alvo e primers produzidos a partir de estudos genômicos de vírus. É crucial usar um conjunto de quatro primers específicos para o gene/região alvo para maximizar a sensibilidade do RT-LAMP (Carter et al., 2020). Colorimetria, espectrofotometria e fluorescência em tempo real (Srivastava et al., 2020), entre outras técnicas, podem ser usadas para detectar resultados de amplificação a olho nu.

Além disso, o ensaio sorológico, também conhecido como teste sorológico ou teste de anticorpos, foi usado para detectar a presença de imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG) semelhantes a anticorpos contra doenças específicas, analisando amostras de soro, plasma ou quaisquer outros fluidos biológicos do paciente (Bonelli et al., 2020). Poucos dias após desenvolver alguma doença infecciosa, nosso corpo produz um anticorpo para combater a causa da infecção. Como primeira resposta, um anticorpo IgM é produzido e trocado para IgG após algumas semanas (IgG também indica imunidade pós-infecção). Poucas variantes de testes sorológicos estão disponíveis: por exemplo, testes de inibição de hemaglutinina, testes de neutralização, ensaios imunoenzimáticos (ELISA) e testes de floculação (Bonelli et al., 2020; Carter et al., 2020).

### 1.9 Principais variantes de SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 desenvolve diversas mutações que os torna de maior infectividade e capacidade de evasão a anticorpos, e que vem sendo acompanhadas pela OMS durante todo o período pandêmico até os dias atuais. A OMS (2023) classifica as variantes como:

- *VUM variants under monitoring*, Variantes sob Monitoramento: uma variante com mutações sobre as quais há suspeitas de que afetam características do vírus e com sinais de crescimento acelerado em relação a outras variantes em circulação, global ou localmente, mas para a qual há poucas/obscuras evidências de impacto fenotípico ou epidemiológico.
- *VOI variants of interest*, Variantes de Interesse: uma variante com mutações cujos impactos preditos ou conhecidos nas características do vírus afetam sua transmissibilidade, virulência, evasão imune, suscetibilidade a fármacos, detectabilidade e ainda com sinais de crescimento acelerado em relação a outras variantes em circulação em mais de uma região considerada pela OMS, com ainda mais algumas especificações.
- *VOC variants of concern*, Variantes de Preocupação: uma variante que já atende aos critérios de VOI, mas que através de avaliação de risco pelo TAG-VE , é associado (com moderado ou alto nível de confiança e em relação a outras linhagens) a pelo menos um dos seguintes critérios: detrimento na severidade clínica da doença; mudança na epidemiologia da doença de modo a causar impactos substanciais na capacidade dos sistemas de saúde de prestar cuidados adequados a pacientes com COVID-19 ou outras doenças - sendo necessárias intervenções de saúde pública; ou redução significativa da efetividade de vacinas disponíveis contra formas severas da doença.

Cada VOC mostrou vantagens de transmissão e tornou-se dominante, quer

regionalmente nos casos de Alfa (linhagem PANGO B.1.1.7), Beta (B.1.351) e Gama (P.1), ou globalmente, nos casos de Delta (sublinhagens B.1.617.2/AY) e das muitas sublinhagens Omicron (sublinhagens B.1.1.529/BA, como BA.1, BA.2 e BA. 5) (O'Toole et al., 2022). Desde o início da pandemia de COVID-19, diversas variantes do SARS-CoV-2 surgiram em todo o mundo, a maioria dessas é resultado de mutações aleatórias que ocorrem naturalmente à medida que o vírus se replica. No entanto, algumas dessas mutações podem ser selecionadas em populações humanas que têm imunidade pré-existente ao vírus, seja por meio da infecção anterior ou da vacinação (WHO, 2023). Uma das primeiras VOC do SARS-CoV-2 em destaque foi a variante B.1.1.7, identificada pela primeira vez no Reino Unido em setembro de 2020. Esta variante possui importante deleção nos aminoácidos nas posições 69 e 70 da proteína S, incluindo a mutação N501Y, que está associada a uma maior transmissibilidade do vírus (Weisblum et al., 2020). A boa notícia é que as vacinas contra a COVID-19 parecem ser eficazes contra a variante B.1.1.7, sendo que a maior parte dos estudos demonstra uma eficácia semelhante contra a variante B.1.1.7 e outras variantes do vírus (Davies et al., 2021).

Outras variantes que foram evidenciadas incluem a variante B.1.351 identificada na África do Sul em dezembro de 2020 e P.1, identificada pela primeira vez no Brasil em janeiro de 2021 ambas com várias mutações na proteína S do vírus, incluindo a mutação E484K, que pode influenciar no reconhecimento e neutralização do vírus pelo sistema imunológico (Tegalli et al., 2021; Faria et al., 2021).

A Ômicron foi identificada pela primeira vez em Botswana, África do Sul em novembro de 2021 e rapidamente chamou a atenção da comunidade científica global (Callaway, 2021), tendo desenvolvido ao longo de quase um ano e seis meses um grande número de sublinhagens (ou subvariantes) que têm como característica comum sua preferência, em comparação com as VOC anteriores (B.1.1.7, B.1.351 P.1), em infectar células do trato respiratório superior em relação às do trato respiratório inferior, e capacidade de evasão a anticorpos produzidos em resposta a infecções prévias e/ou em resposta à vacinas (WHO, 2023). A Ômicron apresentou mais de 30 de mutações na proteína S, fato que induziu preocupações científicas no que diz respeito a um possível aumento da transmissibilidade e escape imunológico (Jung et al., 2022).

### **1.10 Ômicron e as sublinhagens**

As Sublinhagens da Ômicron representam 98% dos RNA de amostras sequenciados desde fevereiro de 2022 e depositadas na plataforma GISAID (do inglês, Global Initiative on

Sharing All Influenza Data). Em contraste com Alfa e Delta, o sucesso evolutivo da variante Ômicron não está ligado à otimização da clivagem da furina. Em vez disso, Ômicron é caracterizado por um fenótipo de entrada alterado (Pavão et al., 2022; Willet et al., 2022), juntamente com um escape imunológico significativo (Willet et al., 2022; Cao et al., 2022; Zhou et al., 2022), permitindo a infecção eficiente de indivíduos vacinados ou previamente infectados. Embora a transmissibilidade numa população ingênua seja largamente determinada por propriedades virais intrínsecas, o cenário imunitário cada vez mais complexo em que o SARS-CoV-2 circula agora significa que a fuga de anticorpos (em oposição à transmissibilidade ser aumentada apenas pela biologia do vírus, uma característica que pode ser difícil otimizar ainda mais do que o alcançado pela Ômicron) tornando o principal impulsionador do sucesso da variante (Carabelli et al., 2023).

As primeiras subvariantes da Ômicron foram encontradas em amostras de pacientes em diferentes partes do mundo, incluindo África do Sul, Reino Unido e Hong Kong. A subvariante BA.1 possui uma mutação adicional no gene da proteína S do vírus, chamada de S371L. Essa mutação pode afetar a capacidade do sistema imunológico de reconhecer o vírus e pode tornar a subvariante mais transmissível. Atualmente já é de conhecimento que a variante ômicron foi dividida em subvariantes, sendo as mais amplamente difundidas BA.1, BA.2, BA.3, BA.4 e BA.5 (Kopsidas et al., 2022).

No Brasil as linhagens BA.1 e BA.2 entraram e se espalharam no país de forma expressiva. Um estudo por meio do sequenciamento de 2.173 genomas de amostras coletadas entre outubro de 2021 e abril de 2022, além da comparação filodinâmica com 18.000 sequências disponíveis publicamente, identificou que a Ômicron estava presente no Brasil desde 16 de novembro de 2021 e em janeiro de 2022 já era mais de 99% das amostras positivas (Lamarca et al., 2023).

Quanto às sublinhagens BA.2, BA.4 e BA.5, experimentos de neutralização revelaram que a imunidade induzida pelas vacinas contra COVID-19 é menos eficaz em comparação com VOCs anteriores (Cele et al., 2021; Yamasoba et al., 2022; Hossain et al., 2022; Gruell et al., 2022). Vários países recomendaram uma dose de reforço em resposta ao surgimento da variante Ômicron, aumentando ainda a disparidade de imunização entre os países de rendimento elevado e os países de África (Colijn et al., 2022).

Quando dois vírus de RNA co-infectam a mesma célula dentro de um indivíduo, há uma grande chance, durante a replicação do genoma, de que a polimerase mude de um modelo de sequência do genoma para o genoma heterólogo. Isto resulta num vírus recombinante com parte do seu genoma de um “progenitor” e a restante sequência genômica do outro. Várias

linhagens recombinantes da Ômicron foram identificadas em diferentes locais e designadas pelo sistema de classificação PANGO (O'Toole et al., 2022).

Um exemplo de recombinante é o XD — um recombinante Delta × BA.1 encontrado pela primeira vez em janeiro de 2022 na França (Simon-Lorière et al., 2022). O XD tem dois pontos de quebra do genoma, com uma espinha dorsal e parte do domínio amino-terminal da proteína spike de Delta e o restante da proteína spike de BA.1. Funcionalmente, foi demonstrado que o XD tem um fenótipo de patogenicidade intermediário entre BA.1 e Delta em camundongos transgênicos que expressam a ACE2 (Carabelli et al., 2023).

Um outro exemplo, a XBB é um recombinante de rápido crescimento entre duas linhagens BA.2 de segunda geração - BJ.1 (também conhecido como BA.2.10.1.1) e BA.2.75 - e contém um grande número de mutações no domínio de ligação ao receptor antigênico e demonstrou ser fracamente neutralizado por anti-soros inovadores anteriores da Omicron207. Antes do rápido crescimento do XBB, os recombinantes não tinham tido um grande impacto no curso da pandemia, geralmente aparecendo na altura em que novas variantes substituíam linhagens anteriormente dominantes. Deve-se notar que tal recombinação é comum entre os sarbecovírus que infectam morcegos-ferradura, como exemplificado pelos altos níveis de genomas recombinantes detectados e pela tendência de troca da proteína spike, indicativo de frequentes eventos de mudança antigênica (Lytras et al., 2022).

A EG.5 é uma linhagem descendente da XBB.1.9.2 (uma sublinhagem da Ômicron) e foi notificada pela primeira vez em fevereiro de 2023. Ela foi classificada como uma VOI em 9 de agosto de 2023. Tem ocorrido no mundo um aumento constante de infecções por EG.5. Essa tendência também foi observada em alguns países da região, incluindo Canadá, Colômbia, Costa Rica, República Dominicana e Estados Unidos. Entretanto, até o momento, não foram notificadas mudanças na gravidade da doença associada a esta variante (OPAS, 2023).

O surgimento de novas variantes depende principalmente da sua vantagem seletiva, traduzida como maior transmissibilidade e capacidade de invadir pessoas com imunidade existente. A descrição destes padrões é útil para uma melhor compreensão da epidemiologia da transmissão das VOC e para gerar hipóteses sobre o futuro das variantes emergentes. traduzido como maior transmissibilidade e capacidade de invadir pessoas com imunidade existente (Kopsidas et al., 2022).

Apesar das preocupações com as variantes, as vacinas contra a COVID-19 parecem ser eficazes contra a maioria delas. No entanto, é importante continuar monitorando a evolução do vírus e desenvolver estratégias para lidar com novas variantes à medida que estas vão surgindo.

## 1.11 A realidade da infecção no Tocantins

O primeiro caso de COVID-19 no estado do Tocantins ocorreu em 18 de março de 2020, segundo dados da Secretária Estadual de Saúde do Tocantins (SES-TO). A paciente, de 42 anos, apresentou calafrios, cansaço e dor no corpo após retorno de viagem a Fortaleza - Ceará, no dia 8 de março, onde participou de um congresso. Por outro lado, o primeiro óbito pela doença do estado só ocorreu em 14 de abril de 2020, a vítima tinha 47 anos, sexo feminino e aparentemente não apresentava comorbidades relatadas até a data de internação (SES-TO, 2020).

Desde então, novos casos foram sendo reportados no estado, incluindo a circulação de novas VOCs que intensificaram as campanhas para vacinação. Atualmente, segundo dados do SES-TO, o estado conta com 381.591 casos confirmados e 4.291 óbitos relatados devido a doença, levando a uma taxa de letalidade média 1,12% (SES-TO, 2024). Conforme observado na tabela 2, a município que apresenta o maior número de casos confirmados e óbitos foi a capital Palmas do Tocantins, precedidos do município de Araguaína. Mesmo a capital do estado apresentando o maior número de casos confirmados, observa-se que a taxa de letalidade se mostrou inferior quando comparada com municípios como Araguatins, onde a letalidade registrada é de 2.03%.

**Tabela2.** Casos notificados de COVID-19 nos municípios do estado do Tocantins com maior número de casos.

Município	Casos Notificados	Casos		Incidência	Óbitos	Letalidade (%)
		Confirmados	%			
Palmas	392920	90965	24.46%	30410.16	735	0.81%
Araguaína	137373	53615	14.42%	29708.54	617	1.15%
Gurupi	74970	26710	7.18%	30826.23	298	1.12%
Porto Nacional	45575	16868	4.54%	31820.41	224	1.33%
Paraíso do Tocantins	20541	15837	4.26%	30900.26	214	1.35%
Colinas do Tocantins	22286	10611	2.85%	29954.27	165	1.55%
Guaraí	9807	4354	1.17%	16795.9	83	1.91%
Araguatins	15556	3752	1.01%	10491.88	76	2.03%
Formoso do Araguaia	19203	5498	1.48%	29815.62	73	1.33%
Miranorte	13011	4358	1.17%	32440.08	65	1.49%

**Fonte:** Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde / SES-TO.

Quanto às variantes observadas no estado do Tocantins durante o ano de 2023 destacou-se aquelas que potencialmente poderiam ter o potencial de escape vacinal, considerando o esquema vacinal atualmente utilizando no país. Dentre elas destacam-se: BE.10,

BE.9, BQ.1, BQ.1.1, BQ.1.1.2, BQ.1.1.28, BQ.1.1.6, BQ.1.10, BQ.1.23, BQ.1.5, CK.1, CV.1, DL.1, FE.1, XBB, XBB.1, XBB.1.18, XBB.1.18.1, XBB.1.5 e XBB.1.5.7 (Souza et al., 2023).

Quanto a imunização no estado do Tocantins, estima-se quee 2.861.350 doses de vacinas tenham sido aplicadas até o presente momento, sendo que 66,92 % receberam o esquema vacinal completo e 29,47% com pelo menos uma dose vacinal de reforço. Pessoas de 18 a 64 anos foram as principais imunizadas, e a cidade com maior taxa de imunização foi a capital Palmas do Tocantins com cerca de 85,35% de doses aplicadas na população (SES-TO, 2023).

## 2 JUSTIFICATIVA

---

A pandemia da COVID-19 causada pelo vírus SARS-CoV-2 teve um impacto profundo e duradouro em todo o mundo. Desde o seu surgimento no final de 2019, a doença se espalhou rapidamente, levando a restrições de movimento, fechamento de empresas e escolas, e sobrecarga dos sistemas de saúde em muitos países. O número de casos, hospitalizações e mortes relacionadas à COVID-19 atingiu níveis alarmantes, causando uma crise de saúde pública sem precedentes na era moderna.

À medida que o vírus SARS-CoV-2 se propagava, novas variantes foram surgindo, muitas delas com características preocupantes, como maior transmissibilidade ou potencial de fuga imunológica. Essas variantes, desafiaram constantemente as estratégias de contenção e prevenção, forçando os governos e a comunidade científica a se adaptarem rapidamente. O surgimento dessas variantes ressalta a importância do monitoramento genômico e da vigilância epidemiológica contínua para compreender a evolução do vírus e informar as ações de saúde pública.

No Brasil, o estudo das variantes do SARS-CoV-2 tem sido essencial para entender a dinâmica da pandemia no país. Pesquisadores brasileiros têm desempenhado um papel importante na identificação e caracterização dessas variantes, contribuindo para o conhecimento global sobre a evolução do vírus. O levantamento promovido por Souza et al. (2023) demonstra que o estado do norte do Brasil também sofreu com as subvariantes da Omicron, sendo várias delas ainda vigentes atualmente.

Frente à pandemia mundial pelo SARS-CoV-2 e o elevado número de subvariantes que surgiram no mundo, o estudo justifica-se pela sua importância no sentido de elucidar questões epidemiológicas e moleculares associadas a infecção no Tocantins. Estudos como o de Lamarca et al. (2023) destacam a entrada da variante Ômicron no país, além de relatar a dispersão nos diferentes estados brasileiros. Essa pesquisa é fundamental para subsidiar a tomada de decisões em saúde pública, permitindo o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de prevenção, detecção e controle da COVID-19 no Brasil.

## **3 OBJETIVOS**

---

### **3.1 Objetivo geral:**

Traçar a a epidemiologia molecular da variante Ômicron do SARS-CoV-2 no estado do Tocantins.

### **3.2 Objetivos específicos:**

1. Caracterizar as amostras positivas para SARS-CoV-2 por sequenciamento genômico e análise filogenética;
2. Identificar, por meio de estudos moleculares, as principais subvariantes da Ômicron circulantes no estado do Tocantins e sua associação com o aumento de casos de COVID-19;
3. Verificar a dispersão das subvariantes da Ômicron no Tocantins e no mundo.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

---

### 4.1 Tipo e local do estudo

Trata-se de um estudo transversal analítico, com abordagem quantitativa, realizado em amostras positivas para SARS-CoV-2 do Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins (LACEN-TO), localizado no município de Palmas do Tocantins coletadas entre dezembro de 2021 e junho de 2023. O LACEN- TO durante o período da pandemia por COVID-19 foi o principal centro de testagem e identificação da infecção.

### 4.2 Procedimentos éticos

Para a realização deste estudo, foram obedecidos os preceitos éticos estabelecidos na Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012 e da Resolução nº 510/2016, que trata sobre pesquisas e testes realizados em seres humanos, o qual enfatiza que a missão do Sistema CEP/CONEP é a proteção devida dos participantes das pesquisas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética sob o parecer 33202820.7.1001.5348 (ANEXO B).

### 4.3 Critérios de elegibilidade

Foram incluídas no estudo, um total de 556 amostras positivas para o RNA do SARS-CoV-2 pelas metodologias RT-PCR e/ou RT-LAMP. As amostras foram oriundas dos municípios que fazem parte do estado do Tocantins e que foram encaminhadas para o LACEN-TO a fim de obter confirmação para COVID-19.

#### 4.3.1 Critérios de inclusão

- Amostras previamente enviadas ao LACEN-TO, processadas e identificadas como positivas para o RNA do SARS-CoV-2 através da metodologia de RT-PCR e/ou RT-LAMP, proveniente de indivíduo residente do estado do Tocantins.

#### 4.3.2 Critérios de exclusão

- Pacientes que não tenham resultado positivo em RT-PCR ou RT-LAMP para

COVID-19.

- Amostras de sangue hemolisadas ou em quantidade insuficientes para análise;
- Dados epidemiológicos do paciente demonstrando este ser residente de outro estado brasileiro.

#### **4.4 Coleta e testagem das amostras**

As amostras de swab nasofaríngeo positivo para SARS-CoV-2 coletadas entre dezembro de 2021 e junho de 2023 no LACEN -TO. O kit utilizado para todas as amostras foi o ensaio Allplex 2019-nCoV, Seegene Inc., Seul, Coreia (fornecido pelo Ministério da Saúde do Brasil e utilizado como procedimento de rotina em todos os laboratórios de saúde pública do Brasil). As reações de RT-qPCR foram realizadas utilizando 6,5 µL das amostras extraídas, e seguindo protocolo dos fabricantes.

Resumidamente, o kit Allplex emprega pares de iniciadores e sondas que tem como alvo os genes E (FAM), N (Quasar 670) e RdRP (Cal Red 610), além de um controle interno (IC; HEX) em um multiplex RT-qPCR. Todas as reações de RT-qPCR foram realizadas utilizando o sistema QuantStudio 5 Real-Time PCR (Applied Biosystems, Waltham, CA, EUA). No total, foram selecionadas 556 amostras positivas com *Cycle threshold* (Ct) inferior a 25.

#### **4.5 Extração e sequenciamento de RNA**

As amostras foram submetidas à extração utilizando kit Extracta Viral RNA MVXA-P096 FAST (Loccus, Brasil) em extrator automatizado (Extracta 96, Loccus, Brasil) seguindo as orientações do fabricante. A síntese de cDNA foi realizada utilizando Luna Script RT SuperMix (5×) (New England Biolabs, Ipswich, MA, EUA). Os cDNAs sintetizados foram utilizados em reação de PCR multiplexada usando os dois conjuntos de iniciadores não sobrepostos fornecidos pela Rede ARTIC para gerar amplicons de ~ 400 pb lado a lado no genoma (iniciadores V3 nCov-2019) (conjunto de iniciadores ARTIC).

Os amplicons de ambos os conjuntos de iniciadores foram combinados e purificados com um volume de 1x de esferas Ampure XP (Beckman Coulter, Brea, CA, EUA). A preparação da biblioteca MinION foi realizada utilizando o kit Ligation Sequencing SQK-LSK-109 e os kits Natives Barcoding EXP-NBD104 e EXP-NBD114 (Oxford Nanopore, Oxford, Reino Unido). A biblioteca resultante foi carregada em células de fluxo R9.4 Oxford MinION (FLO-MIN106) e sequenciada usando o dispositivo MinION Mk1B. O software ONT

MinKNOW foi usado para coletar dados brutos. Análises de chamada de base e controle de qualidade de alta precisão foram realizadas usando Guppy (v6.0.1) e NanoPlot (v.1.33.0), respectivamente. A montagem da base de alta precisão chamada arquivos fastq foi realizada usando o protocolo de bioinformática do novo coronavírus nCoV-2019 ( <https://artic.network/ncov-2019/ncov2019-bioinformatics-sop.html> , acessado em 12 de janeiro de 2022) com Minimap2 (Li, 2018) e Medaka ( <https://github.com/nanoporetech/medaka>, acessado em 12 de janeiro de 2022) para geração de sequência consenso.

#### **4.6 Análise Comparativa do Genoma**

Todas as sequências foram analisadas com Nextclade v2.14.1 (Aksamentov et al., 2021) para determinar o clado e o número de regiões lacunares. As linhagens foram atribuídas a cada genoma usando Pangolin v4.3.1 (Rambaut et al., 2020). As sequências foram agrupadas de acordo com as duas VOCs mais importantes para o presente estudo, e alinhadas usando MAFFT v7.490 ( Katoh; Rozewicki; Yamada, 2019), com a referência do genoma da cepa Wuhan-Hu-1 (número de acesso: NC\_045512.2) como a primeira sequência no alinhamento.

#### **4.7 Análise filogenética da subvariante XBB.1.18.1**

As 22 sequências da variante XBB.1.18.1 do Tocantins foram combinadas com 1.400 sequências do genoma do SARS-CoV-2 para avaliar as relações filodemográficas do vírus que circula em um contexto global. Assim, todas as sequências do genoma e metadados associados depositados até 31 de setembro de 2023 foram obtidos no GISAID. A primeira análise de subamostragem foi realizada usando o kit de ferramentas de bioinformática da Nextstrain (Hadfield et al., 2018), afim de verificar a qualidade das sequências definidas. As sequências provenientes de amostras clínicas de indivíduos residentes no Tocantins foram definidas como coleção de sequências focais. Essas etapas resultaram em um conjunto de dados com 1.422 sequências.

O alinhamento de múltiplas sequências foi realizado usando MAFFT com configurações padrão e inspecionado manualmente usando AliView v1.28 (LARSSON, 2014). A árvore filogenética de máxima verossimilhança (ML) foi construída usando IQ-TREE v2.2.6 (Minh et al., 2020). A análise IQ-TREE foi realizada sob o modelo generalizado reversível no tempo (GTR) de substituição de nucleotídeos com frequências de base empíricas (+F) mais modelo FreeRate (+R3), conforme selecionado pelo software ModelFinder (Kalyaanamoorthy

et al., 2017) e 1000 réplicas de ultra \_ rápido bootstrapping (-B 1000) e teste de ramificação SH-aLRT (-alrt 1000).

A árvore foi visualizada usando o software FigTree v.1.4.4 (Rambaut et al., 2020). Três sequências eram discrepantes e foram removidas da análise, ao final 1.419 sequências fizeram parte do conjunto final de dados.

-  
-  
-

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

Os resultados obtidos nessa tese estão apresentados em forma de artigo. Para responder o objetivo geral e os objetivos específicos do estudo, foi produzido o Artigo 01. O artigo foi submetido a revista *Microbes and Infection*, que é do escopo do artigo produzido, porém a formatação atual segue as Normas da Coordenadoria de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública (CPGMTSP) N° 12 da Universidade Federal de Goiás.

Prevê-se que após o período de defesa da tese, novos artigos poderão ser elaborados mediante análises que não realizadas.

## COMPROVANTE DE SUBMISSÃO

Microbes and Infection <em@editorialmanager.com>

Qui, 25/04/2024 22:06

Para: Mateus Silva Santos <biomateus07@outlook.com>

\*This is an automated message. \*

Journal: Microbes and Infection

Title: A Comprehensive Analysis of the SARS-CoV-2 Omicron Variant in Tocantins State, Brazil, and Tracing the Spread of the XBB.1.18.1 Lineage

Corresponding Author: Dr Ueric José Borges de Souza

Co-Authors: Mateus Silva Santos, Msc.; Franciano Dias Pereira Cardoso; Jucimária Dantas Galvão; Fernando Rosado Spilki; Célia Maria de Almeida Soares, Ph.D; Fabrício Souza Campos, Ph.D

Manuscript Number:

Dear Mateus Silva Santos,

Dr Ueric José Borges de Souza submitted this manuscript via Elsevier's online submission system, Editorial Manager, and you have been listed as a Co-Author of this submission. Elsevier asks Co-Authors to confirm their consent to be listed as Co-Author and track the papers status. In order to confirm your connection to this submission, please click here to confirm your co-authorship:

<https://www.editorialmanager.com/micinf/l.asp?i=177304&l=N1AER4PJ>

If you have not yet registered for the journal on Editorial Manager, you will need to create an account to complete this confirmation. Once your account is set up and you have confirmed your status as Co-Author of the submission, you will be able to view and track the status of the submission as it goes through the editorial process by logging in at

<https://www.editorialmanager.com/micinf/>

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author directly at [uericjose@gmail.com](mailto:uericjose@gmail.com)

Thank you,

Microbes and Infection

More information and support

FAQ: What is Editorial Manager Co-Author registration?

[https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/28460/supporthub/publishing/kw/co-author+editorial+manager/](https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28460/supporthub/publishing/kw/co-author+editorial+manager/)

%CUSTOM\_AUTHORSUPPORT%

%CUSTOM\_GENERALSUPPORT%

---

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL:

<https://www.editorialmanager.com/micinf/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

## 5.1 Artigo 1: Uma análise abrangente da variante Ômicron do SARS-CoV-2 no estado do Tocantins, Brasil, rastreando a propagação da linhagem XBB.1.18.1

Mateus Silva Santos<sup>1,2#</sup>, Ueric José Borges de Souza<sup>1##</sup>, Franciano Dias Pereira Cardoso<sup>3</sup>, Jucimária Dantas Galvão<sup>3</sup>, Fernando Rosado Spilki<sup>4</sup>, Célia Maria de Almeida Soares<sup>2,5</sup>, Fabrício Souza Campos<sup>1,6\*</sup>

1 - Laboratório de Bioinformática e Biotecnologia, Campus de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Tocantins, 77410-570, Brasil

2 - Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, 74690-900 Brasil.

3 - Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Tocantins, Palmas, 77054-970, Brasil

4 - Laboratório de Microbiologia Molecular, Universidade Feevale, Novo Hamburgo 93525-075, Brasil

5 - Laboratório de Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, 74690-900 Brasil.

6 - Laboratório de Virologia, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 90050-170, Brasil

#Todos os autores contribuíram igualmente.

\*Autor correspondente: [uericjose@gmail.com](mailto:uericjose@gmail.com) (U.J.B.S.), [camposvet@gmail.com](mailto:camposvet@gmail.com) (F.S.C.).

### RESUMO

Este estudo apresenta uma exploração genômica e epidemiológica das sublinhagens da variante Ômicron no Tocantins, Brasil. Um total de 556 amostras positivas, obtidas de indivíduos que testaram positivo para SARS-CoV-2 entre 21 de dezembro de 2021 e 30 de junho de 2023, foram submetidas a sequenciamento genômico. Após a extração do RNA, a síntese de cDNA foi executada, e um ensaio de PCR multiplexado foi empregado para sequenciamento usando a plataforma Oxford Nanopore MinION. Os padrões de dispersão da linhagem XBB.1.18.1 foram analisados como um estudo de caso, empregando a construção de árvores filogenéticas de máxima verossimilhança e um modelo filogeográfico discreto. Análises subsequentes revelaram 39 sublinhagens, com BQ.1.1, BA.5.2.1 e BA.1.14.1 emergindo como as mais prevalentes no período estudado. Notavelmente, a emergência das linhagens BQ.1.1 e BQ.1 no Tocantins foi observada em novembro e dezembro de 2022, respectivamente. A linhagem XBB.1.18.1, dominante de janeiro a junho de 2023, apresentou notável circulação local e internacional. Através do mapeamento dos padrões de migração dessa linhagem, o Tocantins foi identificado como um nó fundamental para a dispersão do vírus, com casos de importação mínima. O estudo estimou a emergência global da linhagem XBB.1.18.1 em meados de outubro de 2022. Esta investigação contribui para a compreensão da dinâmica do SARS-CoV-2 no Tocantins e ressalta a importância das rotas de transporte na propagação do vírus.

**Palavras-chave:** SARS-CoV-2, sequenciamento genômico, análise filogenética, transmissão de vírus, saúde pública, vigilância genômica

## INTRODUÇÃO

O Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Grave (SARS-CoV-2), agente causador da COVID-19, desencadeou uma pandemia global com consequências sem precedentes para a saúde e as economias de vários países. Até o final de 2023, a COVID-19 havia acumulado mais de 770 milhões de casos confirmados, resultando em 6,8 milhões de mortes (OMS, 2023). Apesar das campanhas de vacinação serem realizadas em todos os continentes, certas revelações sobre a infecção têm colocado novos desafios para os pesquisadores. Mutações adaptativas no genoma viral têm o potencial de modificar a patogenicidade do vírus, impactando significativamente sua capacidade de escapar do sistema imunológico, necessitando de atualizações contínuas das vacinas (Giovanetti et al., 2021; Kopsidas et al., 2022).

O SARS-CoV-2 demonstrou uma propensão para a evolução genética à medida que se adapta ao seu novo hospedeiro humano, acumulando mutações ao longo do tempo, levando ao surgimento de múltiplas variantes, algumas das quais são classificadas como Variantes de Preocupação (VOCs) devido ao seu impacto na saúde pública (Korber et al., 2024). As VOCs estão ligadas a maior transmissibilidade, virulência, diminuição da neutralização por anticorpos adquiridos e diminuição da eficácia terapêutica ou vacinal (Aleem et al., 2024).

Atualmente, entre o grupo de VOCs para SARS-CoV-2, a variante Ômicron (B.1.1.529) se destaca. Detectada inicialmente na província de Gauteng, na África do Sul, em 24 de novembro de 2021, por meio de sequenciamento genômico e análise epidemiológica (Callaway, 2021), essa variante tem atraído atenção global significativa. Notavelmente, exibe notável transmissibilidade dentro das populações, tornando-se um ponto focal de preocupação global. Com mais de 30 mutações identificadas na proteína S em comparação com VOCs precedentes, a variante Ômicron levantou preocupações científicas sobre seu potencial para maior transmissibilidade e evasão de respostas imunes (Jung et al., 2022).

No Tocantins, Brasil, o primeiro caso da variante Ômicron foi notificado oficialmente em 10 de dezembro de 2021, segundo dados da Secretaria de Estado da Saúde (SES-TO, 2021). O surgimento de novas linhagens de Ômicron tem atraído atenção e preocupação significativas em todo o mundo. Além da maior taxa de mutação, também apresenta mudanças significativas em sua composição genética, o que pode impactar a eficácia no mundo real das vacinas disponíveis (Cevik et al., 202; Planas et al., 2021). Entre essas variantes, a linhagem XBB é particularmente notável, emergindo por volta de julho de 2022 através de eventos de recombinação envolvendo dois descendentes de BA.2, BJ.1, e BM.1.1.1, uma progênie de

BA.2.75 (Ngiam et al., 2022; Velavan et al., 2023; Goh et al., 2023; Tamura et al., 2023). Sua propagação inicial foi principalmente na Ásia, com Singapura experimentando um aumento acentuado nos casos atribuídos a essa cepa. XBB herdou a parte 5' de seu genoma de BJ.1 e a extremidade 3' de BA.2.75, com um único ponto de quebra dentro do RBD de Spike. Este ponto de quebra único dentro da proteína Spike confere potentes mutações antigênicas do RBD características tanto do BJ.1 quanto do BA.2.75, tornando-o uma das combinações mais potentes de mutações antigênicas do RBD observadas entre as variantes até o momento, resultando em uma divergência antigênica relativamente substancial das variantes precedentes (Cao et al., 2022).

A prevalência inicial das linhagens XBB no Brasil foi caracterizada por cepas portadoras da mutação S:F486P. As linhagens predominantes XBB\*+F486P que surgiram e se espalharam no Brasil incluíram XBB.1.5.86, XBB.1.5.102, XBB.1.18.1 e XBB.1.4.2. Desde o final de 2022, as linhagens XBB\* ganharam dominância, exibindo ligação aprimorada à ACE2 humana, mantendo uma capacidade notavelmente forte de escapar da imunidade humoral (Uraki et al., 2023; Yue et al., 2023; Wang et al., 2023; Kurhade et al., 2023). Essas linhagens imunoevasivas acumulam continuamente mutações em S, como R403K, V445S, L455F, F456L e K478R, o que pode resultar em uma mudança mais significativa na antigenicidade e na evasão de anticorpos neutralizantes induzida por vacinação repetida e infecção prévia (Cao et al., 2022; Yamasoba et al., 2023). Notavelmente, certas mutações de escape imune, exemplificadas por F456L, emergiram recentemente de maneira convergente em múltiplas cepas independentes de derivados de XBB, tais como EG.5, XBB.1.5.10, FE.1 e FD.1.1, indicando forte pressão de seleção devido à imunidade de rebanho (Kaku et al., 2023; Dyer, 2023).

Portanto, os estudos de vigilância genômica desempenham um papel fundamental na investigação do SARS-CoV-2 e suas variantes, fornecendo informações cruciais para a compreensão da evolução, disseminação e impactos potenciais do vírus na saúde pública (Oude; Nieuwenhuijse, 2021). Utilizando técnicas avançadas de sequenciamento, como o sequenciamento de nanoporos, é viável analisar o vírus, identificar mutações que podem influenciar a transmissibilidade ou a gravidade da doença e rastrear a disseminação de diferentes variantes do SARS-CoV-2 em diversas regiões geográficas. Essa ferramenta tem sido demonstrada em numerosos estudos de vigilância genômica em regiões onde o sequenciamento rápido e confiável é imperativo, mas os recursos são limitados (Lu; Giordano; Ning, 2016). Para compreender o panorama viral no Tocantins, realizamos uma investigação genômica e epidemiológica com foco nas sublinhagens da variante Ômicron.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Coleta de amostras

Amostras obtidas de pacientes sintomáticos e assintomáticos no estado do Tocantins foram submetidas a testes para detecção de infecção por SARS-CoV-2 por meio da reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real (RT-qPCR). Este ensaio foi realizado em amostras de esfregaço nasal utilizando um kit comercial (SARS-CoV-2-E/RP, Biomanguinhos), fornecido pelo Ministério da Saúde do Brasil, e utilizado como prática padrão em todos os laboratórios de saúde pública do Brasil. As amostras coletadas de pacientes com resultado positivo para SARS-CoV-2 entre 21 de dezembro de 2021 e 30 de junho de 2023 foram então submetidas ao sequenciamento do genoma. Um total de 556 amostras positivas, com ciclo de quantificação (Cq) inferior a 29 para pelo menos um primer, foram selecionadas e submetidas ao sequenciamento do genoma do SARS-CoV-2.

### 2.2 Extração e sequenciamento de RNA

O processamento das amostras foi realizado no Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Tocantins (LACEN-TO) utilizando protocolo baseado em esferas magnéticas com kit Extracta® Viral RNA MVXA-P096 FAST (Loccustm, Brasil) e extrator automatizado (Extracta® 96, Loccustm, Brasil) seguindo as instruções do fabricante. A síntese de cDNA foi realizada utilizando Luna Script RT SuperMix (5×) (New England Biolabs, Ipswich, MA, EUA). Os cDNAs sintetizados serviram como modelos para um ensaio de PCR multiplexado empregando o protocolo de sequenciamento do genoma SARS-CoV2 'Midnight' ([dx.doi.org/10.17504/protocols.io.14egn2q2yg5d/v1](https://doi.org/10.17504/protocols.io.14egn2q2yg5d/v1)), com conjuntos de iniciadores de amplicon de 1200 pb adaptados para sequenciamento de leitura longa. Esta abordagem gerou amplicons sobrepostos lado a lado cobrindo quase todo o genoma do SARS-CoV-2.

Os amplicons de ambos os conjuntos de primers foram combinados e purificados com um volume de 1x de esferas Ampure® XP (Beckman Coulter, Brea, CA, EUA). A preparação da biblioteca para sequenciamento MinION® foi realizada utilizando o kit rápido de código de barras (SQK-RBK110.96). Os códigos de barras rápidos foram adicionados à placa de fixação de código de barras de 96 poços misturando 2,5 µl de água isenta de nuclease, 5 µl de produtos de PCR agrupados (dos conjuntos A e B) e 2,5 µl de códigos de barras da placa de código de barras rápida. Todas as amostras foram reunidas e limpas usando esferas magnéticas SPRI. Adaptadores rápidos foram adicionados a 600–800 ng da biblioteca,

misturados e incubados por 5 min. Posteriormente, o tampão de sequenciamento, as esferas de carga e a biblioteca de DNA foram misturados e carregados em células de fluxo Oxford Nanopore MinION® SpotON FLO-MIN106D, R9.4.1 (Oxford Nanopore Technologies) e submetidos ao sequenciamento usando o dispositivo MinION Mk1B.

A chamada de base de alta precisão foi realizada usando Guppy v6.5.7 (Oxford Nanopore Technologies). A montagem de bases de alta precisão denominadas arquivos fastq foi realizada utilizando o protocolo de bioinformática do novo coronavírus nCoV-2019 (<https://artic.network/ncov-2019/ncov2019-bioinformatics-sop.html>, acessado em 12 de agosto de 2023) com Minimap2 (Li, 2018) e Medaka (<https://github.com/nanoporetech/medaka>, acessado em 12 de agosto de 2023) para geração de sequência de consenso. Os genomas resultantes passaram por controle de qualidade e foram classificados em clados de genoma viral usando o Nextclade versão 2.14.1 (Aksamentov et al., 2021). As linhagens foram atribuídas a cada genoma usando Pangolin v4.3.1 (Rambaut et al., 2020).

### *2.3 Análise epidemiológica*

A evolução da pandemia da COVID-19 no Tocantins, de 1º de novembro de 2021 a 30 de junho de 2023, foi avaliada por meio da compilação de dados sobre o número de casos e óbitos atribuídos à doença. Esta análise utilizou informações de acesso público da Secretaria de Saúde do Tocantins (<http://integra.saude.to.gov.br/covid19/InformacoesEpidemiologicas/>, acessado em 1º de abril de 2024). Além disso, a prevalência de cada linhagem viral durante o período especificado no Tocantins foi investigada usando dados provenientes do GISAID e de genomas recentemente sequenciados. As representações gráficas foram geradas usando o pacote ggplot2 do software R (versão 4.3.2).

### *2.4 Análise filogenética*

Para avaliar a propagação do SARS-CoV-2 no Tocantins, foi realizada uma análise detalhada dos padrões de dispersão dentro da linhagem XBB.1.18.1. As sequências de XBB.1.18.1 disponíveis em 30 de setembro de 2023 foram baixadas do banco de dados GISAID (acessado em 16 de fevereiro de 2024). O alinhamento de múltiplas sequências foi realizado usando MAFFT (Kato; Rozewicki J; Yamada, 2019), com configurações padrão, seguido de inspeção manual usando AliView v1.28 (Larsson, 2014). A árvore filogenética de máxima verossimilhança (ML) foi construída usando IQ-TREE2 v2.2.2.6 (Minh et al., 2020).

A análise IQ-TREE2 foi executada sob o modelo generalizado tempo-reversível (GTR) de substituição de nucleotídeos com frequências de base empíricas (+F) e o modelo de sítio invariável mais FreeRate (I+R4), determinado pelo software ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) e um teste de ramificação SH-aLRT (-alrt 1000). Posteriormente, a árvore ML foi examinada no TempEst v1.5.3 (Rambaut et al., 2016) para avaliar a presença de um sinal de relógio temporal ou molecular. Sequências discrepantes apresentando fortes desvios foram excluídas, resultando em um conjunto de dados final de 1.073 sequências (Figura S1). Uma árvore filogenética em escala de tempo foi inferida usando TreeTime (Sagulenko; Puller; Neher, 2018). A topologia em árvore anotada foi então utilizada para estimar o número de eventos de transmissão viral no Tocantins entre as regiões brasileiras e o resto do mundo, empregando o modelo “migration” TreeTime. As visualizações da árvore filogenética resolvida no tempo foram geradas em R (versão v4.1.2) usando o pacote ggtree (Yu et al., 2017).

## 2.5 Análise Bayesiana

Para inferir a taxa de substituição da linhagem XBB.1.18.1, utilizamos o novo e mais rápido algoritmo de verossimilhança de árvore disponível no pacote BEAST v1.10.5 (pré-lançamento Thorne v0.1.1) (Suchard et al., 2018), juntamente com o coalescente skygrid anterior (Gill et al., 2013). Todos os anteriores e operadores restantes foram definidos conforme definido no padrão. Conduzimos seis execuções independentes de Markov Chain Monte Carlo (MCMC), com cada cadeia compreendendo 100 milhões de etapas e amostragem ocorrendo a cada 10.000 etapas. Removemos um burn-in de 10% das árvores posteriores e resumimos os resultados usando TreeAnnotator (Suchard et al., 2018).

Além disso, extraímos sequências de três subclados que agruparam de forma proeminente numerosas sequências do Tocantins da árvore filogenética usando o pacote caper R (Orme et al., 2012). O alinhamento de múltiplas sequências foi realizado usando MAFFT com configurações padrão, seguido de inspeção manual usando AliView. A avaliação do sinal temporal foi realizada com TempEst v1.5.3 (Figuras S2-S4). Padrões espaciais e temporais de difusão foram estimados através de uma abordagem Bayesiana de Markov Chain Monte Carlo (MCMC) implementada em BEAST v1.10.4 (Suchard et al., 2018) e com BEAGLE v3.1.2 (Ayres et al., 2012) para aumentar a eficiência computacional. O modelo GTR + G + I foi empregado para modelar a evolução dos nucleotídeos sob um modelo de relógio estrito com uma Cadeia de Markov de Tempo Contínuo (CTMC) e o modelo coalescente exponencial

(Ferreira; Suchard, 2008). Para cada conjunto de dados, foram executadas três cadeias MCMC independentes, cada uma executando 50 milhões de estados, com amostragem a cada 5.000 gerações. Os resultados dessas execuções independentes foram mesclados usando LogCombiner v1.10.4 (Suchard et al., 2018), e a convergência da cadeia MCMC foi avaliada usando Tracer v1.7.2 (Rambaut et al., 2018). As árvores máximas do clado foram resumidas das amostras MCMC usando TreeAnnotator V1.10.4, descartando os 10% iniciais como burn-in (Suchard et al., 2018). As árvores filogenéticas MCMC foram visualizadas usando o pacote ggtree R.

Um modelo filogeográfico discreto (Lemey et al., 2009) foi empregado para reconstruir a difusão espacial do vírus nos locais de amostragem do conjunto de dados compilado. As análises filogeográficas envolveram a aplicação de um modelo assimétrico de transição de localização, e a estimativa das taxas de difusão de localização foi realizada utilizando o modelo Bayesiano de seleção de variáveis de busca estocástica (BSSVS) com um esquema de discretização definido em nível de estados brasileiros e países internacionais. O MCMC foi executado por tempo suficiente para garantir a estacionariedade e atingir um tamanho de amostra efetivo (ESS) superior a 200.

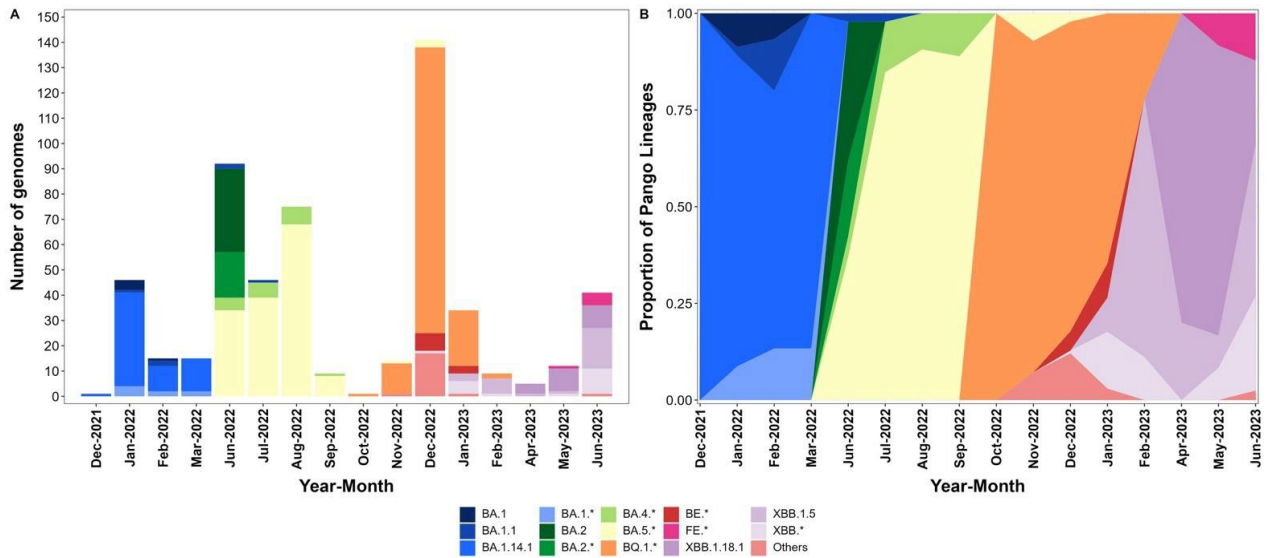
### 3. RESULTADOS

Do total de 556 amostras, 62,4% (347) eram do sexo feminino e 37,6% (209) do sexo masculino, sendo 6,6% (37) enquadrados na faixa etária até 19 anos, 76,1% (423) entre indivíduos de 20 e 59 anos e 17,3% (96) com 60 anos ou mais. As amostras selecionadas apresentaram valores de Ct (limiar de ciclo) variando de 11,6 a 29,1, com média de 21,9. No total, 39 linhagens Pango foram observadas nos 556 genomas sequenciados. A linhagem detectada com mais frequência foi BQ.1.1 (100 sequências, 18%), seguida por BA.5.2.1 (79 sequências ou 14,2%), BA.1.14.1 (61 sequências ou 11,0%), BQ.1 (47 sequências ou 8,5%), BA.5.1 (38 sequências ou 6,8%), BA.2 (33 sequências ou 5,9%), XBB.1.5 (27 sequências ou 4,9%), BA.5 (26 sequências ou 4,7%), XBB.1.18.1 (22 sequências ou 4,0%) (Fig. 1).

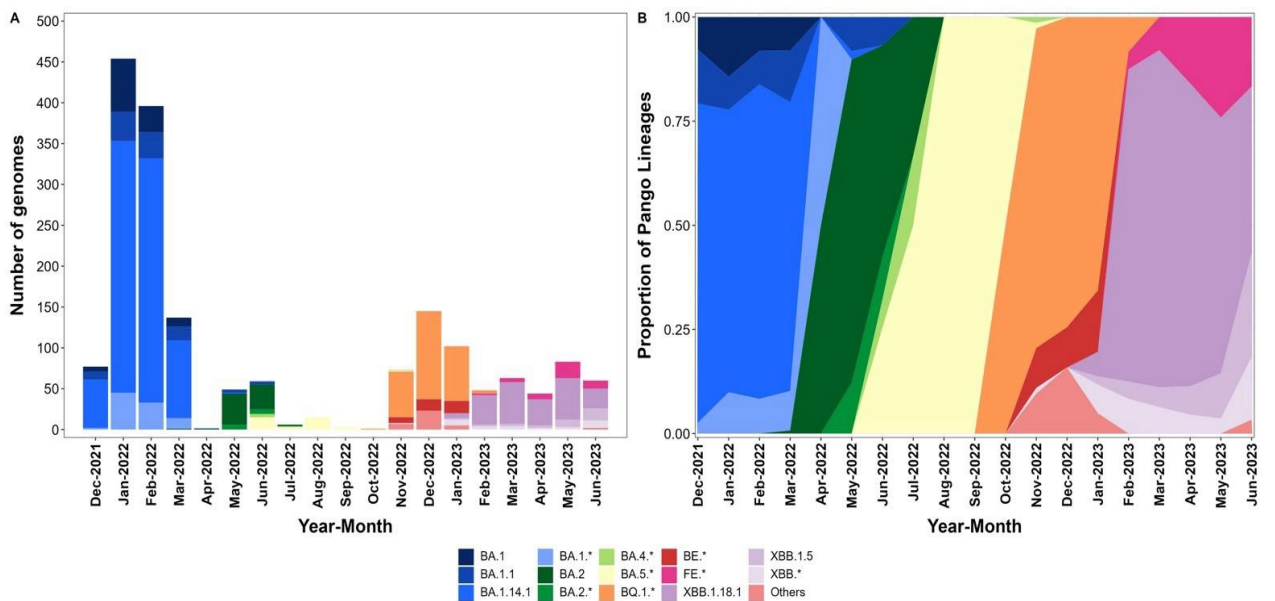
Conforme representado na Figura 1, com base em nossa coleta de dados, destacamos que entre dezembro de 2021 e março de 2022, os genomas sequenciados indicaram a presença das linhagens BA.1 e BA.14.1 como as principais linhagens circulantes nesse período. No entanto, em junho de 2022, as linhagens BA.2 emergiram como predominantes, seguidas pelas linhagens BA.5.1, BA.5.2.1, BA.5 e BA.4. Esses achados estão alinhados com as cepas isoladas no Tocantins disponíveis na base de dados GISAID no mesmo período (Fig. 2), sugerindo a

chegada dessas linhagens ao estado a partir de março de 2022.

Observamos que novembro de 2022 e principalmente dezembro de 2022 marcaram a introdução das linhagens BQ.1.1 e BQ.1 no estado, com subsequente disseminação comunitária na maioria dos casos. O período de sequenciamento de janeiro a junho de 2023 habilitado a detecção de novas linhagens XBB.\* SARS-CoV-2 no Tocantins, notadamente as linhagens XBB.1.18.1 e XBB.1.5.

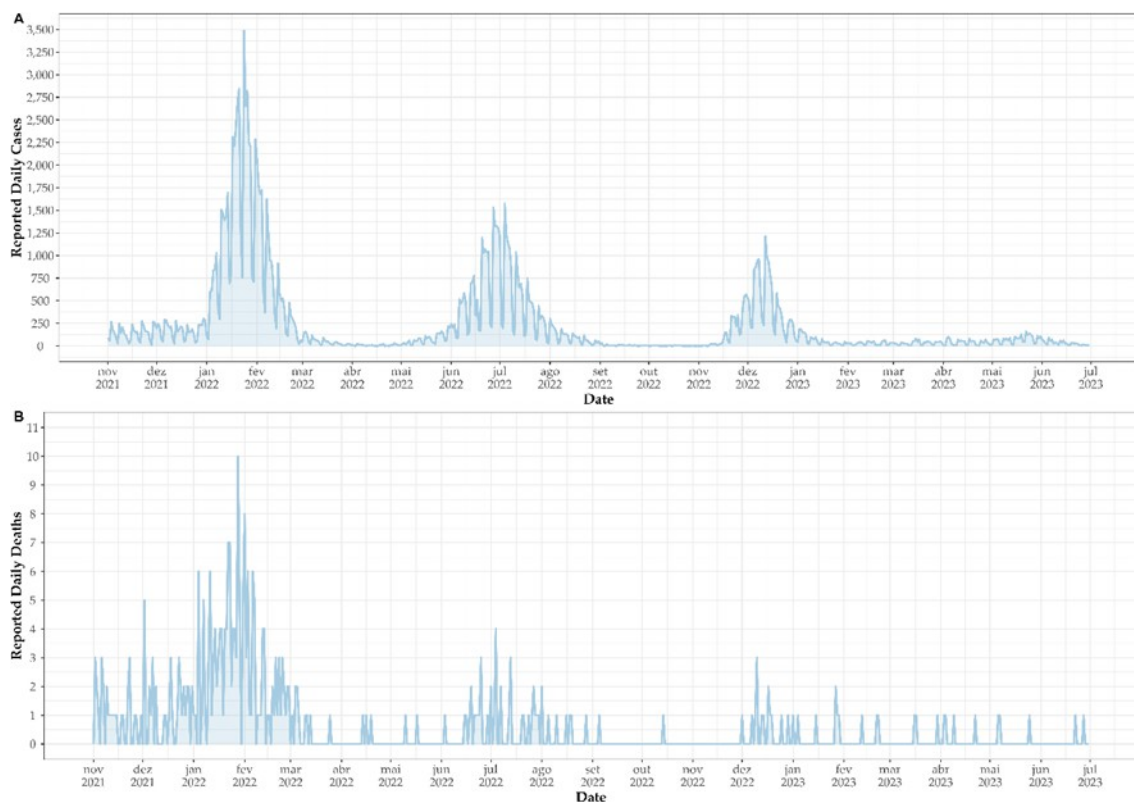


**Figura 1.** Evolução das linhagens Ômicron entre dezembro de 2021 e junho de 2023 com base em nossos dados coletados.



**Figura 2.** Evolução das linhagens Ômicron entre dezembro de 2021 e junho de 2023 no Tocantins utilizando seqüências depositadas no GISAID.

A análise dos dados epidemiológicos revela uma tendência notável nos casos de COVID-19 no Tocantins de novembro a dezembro de 2021, com declínio acentuado dos casos, atingindo os níveis mais baixos observados desde o início da pandemia no estado (957 casos de COVID-19 no terceira semana de dezembro de 2021). Notavelmente, durante este período, predominou a variante Delta. No entanto, à medida que o ano avançava, o número de casos começou a aumentar mais uma vez, atingindo um pico de mais de 14.920 casos notificados durante a quarta semana de janeiro de 2022, marcando a contagem mais alta registrada no Tocantins até o momento deste estudo (Figura 3A). Esse ressurgimento foi particularmente influenciado pelo surgimento e disseminação da variante Omicron no estado, ao lado das linhagens e sublinhagens BA.1. Em junho de 2022, foi observado um ressurgimento no número de casos, impulsionado principalmente pelas linhagens BA.2, BA.4 e BA.5 (Fig. 3A). Além disso, entre dezembro de 2022 e janeiro de 2023, o número de casos aumentou mais uma vez, influenciado pelo surgimento de linhagens XBB (Fig. 3A). Correspondentemente, houve um aumento notável nas mortes, atingindo 35 durante a quarta semana de janeiro, o maior registrado durante o período de estudo (Fig. 3B), embora inferior ao pico observado no primeiro semestre de 2021, quando a variante Gama estava a espalhar-se em todo o Brasil (não representado na Figura 3).



**Figura 3.** Evolução da pandemia de COVID-19 no Tocantins entre 1º de novembro de 2021 a 30 de junho de

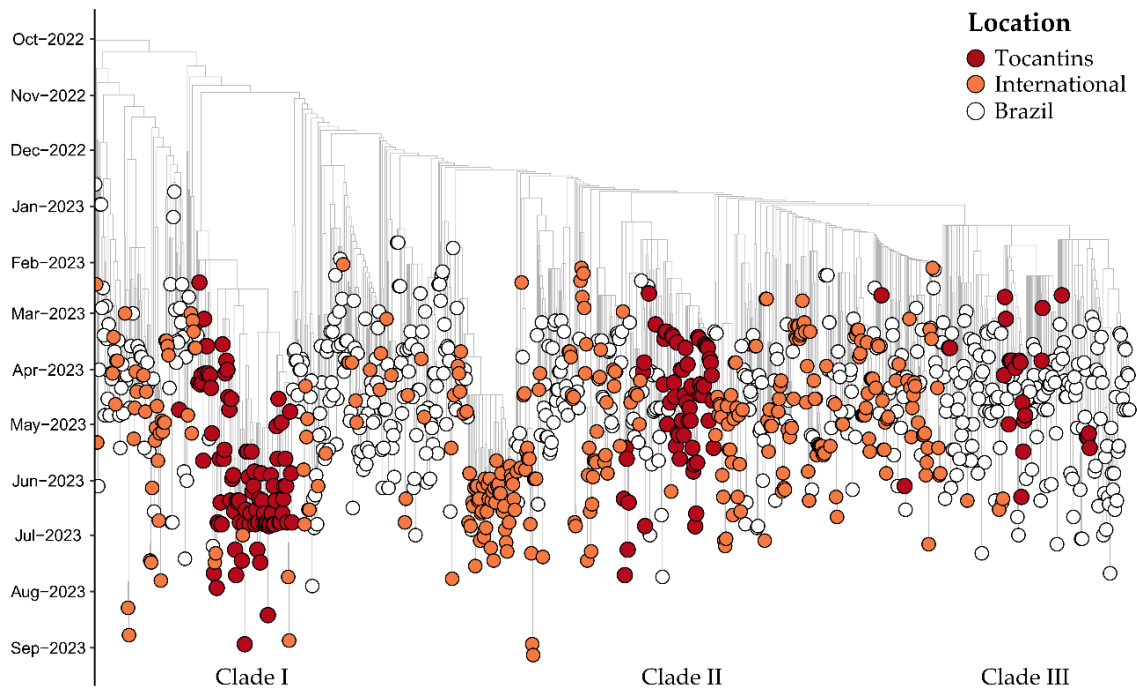
2023. O painel (A) representa o número absoluto de casos neste período, enquanto (B) é o número absoluto de óbitos.

Para melhorar nossa compreensão da linhagem XBB.1.18.1 e suas implicações para a disseminação do vírus no Tocantins, realizamos análises abrangentes. Ao examinarmos as sequências arquivadas no GISAID, notamos que 12,8% (179) das amostras globais eram originárias do Tocantins. Estas descobertas, justapostas às nossas investigações, implicam que o estado provavelmente exerceu uma influência substancial na disseminação da linhagem XBB.1.18.1, tanto a nível nacional como internacional.

#### *Análise filogenética*

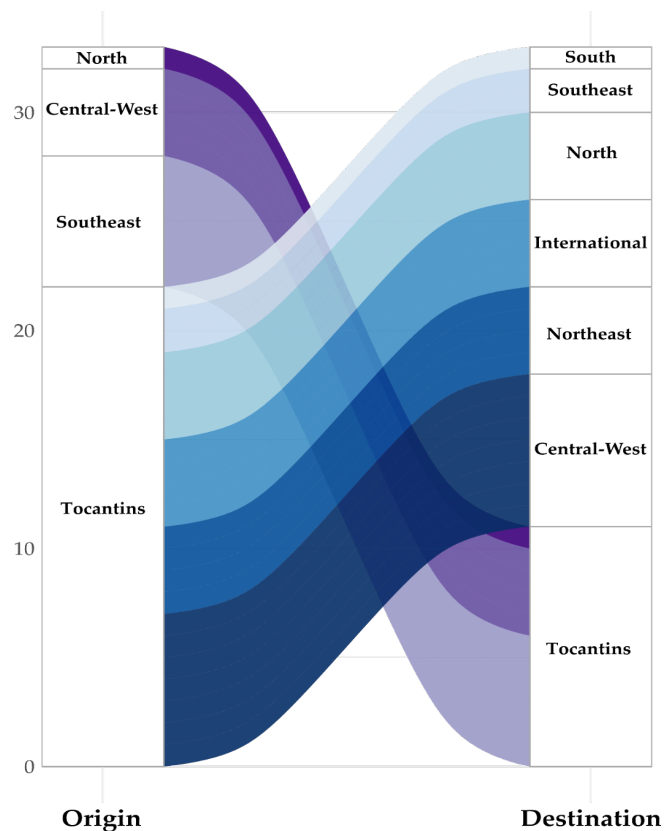
A análise filogenética foi realizada em 1.073 genomas de XBB.1.18.1, aderindo às classificações da linhagem PANGOLIN e dos clados GISAID. A árvore filogenética de máxima verossimilhança resolvida no tempo, representada na Figura 4, ilustra que as sequências do estado do Tocantins formaram três subclados distintos, predominantemente originários do Brasil, com algumas contribuições de fontes internacionais (Fig. 4). A árvore filogenética foi enraizada em uma sequência genômica obtida no estado de São Paulo em novembro de 2022 (EPI\_ISL\_16372004). O genoma mais antigo desta linhagem no Tocantins foi identificado em janeiro de 2023, agrupando-se no Clade I (Fig. 4).

Vale ressaltar que do total de genomas utilizados para reconstrução filogenética, 179 (16,7%) foram provenientes do Tocantins, representando o maior número de genomas disponíveis para esta linhagem. Isto sublinha uma circulação significativa desta linhagem de janeiro de 2023 a junho de 2023, conforme ilustrado nas Figuras 1 e 2 acima. Tocantins foi seguido por genomas obtidos de São Paulo no Sudeste do Brasil (N=106; 9,9%), Estados Unidos (N=71; 6,6%), Mato Grosso do Sul no Centro-Oeste do Brasil (N=69 ; 6,4%), Pará no Norte do Brasil (N=59; 5,5%), Goiás no Centro-Oeste do Brasil (N=47; 4,4%) e Reino Unido (N=34; 3,2%).



**Figura 4.** Árvore de máxima verossimilhança resolvida no tempo de 1.073 genomas SARS-CoV-2 da linhagem XBB.1.18.1. As pontas representam sequências do Brasil e de países internacionais, com genomas do Tocantins destacados em vermelho.

Através da análise das conexões entre regiões de “origem” e “destino” utilizando o modelo de 'assalto', observamos que o estado do Tocantins desempenhou um papel fundamental na dispersão para outras regiões, incluindo a transmissão internacional, com um número mínimo de casos de importação (Figura 5). Tocantins recebeu eventos de importação da linhagem XBB.1.18.1 da região Sudeste no período de dezembro de 2022 a maio de 2023 (N=6), da região Centro-Oeste no período de dezembro de 2022 a março de 2023 (N=4), e apenas um evento foi observado na região Norte em janeiro (Fig. 5 e Fig. S5). A região Centro-Oeste recebeu o maior número (N=7) de eventos importadores do Tocantins entre dezembro de 2022 a maio de 2023. As regiões Nordeste e Norte, bem como países fora do Brasil, receberam cada uma quatro introduções do Tocantins (Fig. 5).



**Figura 5.** Dispersão estimada da linhagem XBB.1.18.1 no Estado do Tocantins através do modelo de 'assalto'. As rotas de transmissão são representadas, com a barra esquerda indicando o local de origem da dispersão e a barra direita indicando seus destinos.

Estimamos que a linhagem XBB.1.18.1 emergiu globalmente já em meados de outubro de 2022 (95% HPD: 20 de setembro de 2022 a 6 de novembro de 2022). Em meados de novembro de 2022, essa linhagem já circulava no Brasil e em diversas partes do mundo. Nossa análise resultou em uma taxa evolutiva mediana de  $5,01 \times 10^{-4}$  (intervalo de densidade posterior (HDP) mais alto de 95%:  $4,68 \times 10^{-4}$  a  $5,30 \times 10^{-4}$  substituições por local por ano).

Dentro da linhagem XBB.1.18.1, identificamos três subclados com suporte robusto de ramificação, abrangendo um número significativo de sequências principalmente do Tocantins. Em relação ao Clade I, nossa análise produziu uma taxa evolutiva mediana de  $6,34 \times 10^{-4}$  (95% HDP):  $5,03 \times 10^{-4}$  a  $7,81 \times 10^{-4}$  substituições por local por ano), e o tempo até o ancestral comum mais recente (TMRCA) foi estimado em 9 de outubro de 2022 (95% HPD: 22 de agosto de 2022 a 23 de novembro de 2022) (Fig. S6). Utilizando o procedimento BSSVS, identificamos taxas bem suportadas de difusão posterior originária do Tocantins para países além do Brasil, notadamente os EUA (Fator Bayes (BF): 106,19; Probabilidade Posterior (PP): 0,91), Áustria (BF: 57,50; PP : 0,85) e Austrália (GC: 32,17; PP: 0,76). Além disso, nossa análise revelou taxas de difusão do Tocantins para diversas regiões do Brasil, incluindo a região

Sul (Paraná – BF: 55,77; PP: 0,84; e Santa Catarina – BF: 12,86; PP: 0,56), a região Norte (Pará – BF: 17,33; PP: 0,58) e região Centro-Oeste (Distrito Federal – BF: 19,80; PP: 0,66; e Goiás – BF: 16,51; PP: 0,62).

Para o Clade II, nossa análise produziu uma taxa evolutiva mediana de  $6,17 \times 10^{-4}$  (intervalo de densidade posterior (HDP) mais alto de 95%):  $4,68 \times 10^{-4}$  a  $7,80 \times 10^{-4}$  substituições por local por ano), com o TMRCA estimado como 9 de novembro de 2022 (95% HPD: 02 de outubro de 2022 a 13 de dezembro de 2022) (Fig. S7). Empregando o procedimento BSSVS, identificamos taxas bem suportadas de difusão posterior originadas do Tocantins apenas para Portugal (BF: 148,28; PP: 0,92). Além disso, observamos introduções virais significativas da Bahia para o Tocantins (GC: 16,28; PP: 0,57), bem como para São Paulo (GC: 16,09; PP: 0,57), Goiás (GC: 9,49; PP: 0,44) e Mato Grosso. Grosso (GC: 9,05; PP: 0,42). Além do foco deste estudo, especificamente o Tocantins, a reconstrução arbórea também mostrou importantes migrações de Mato Grosso para Mato Grosso do Sul (BF: 171,18; PP: 0,93), da Irlanda para o Rio Grande do Sul (BF: 74,41; PP: 0,86). ) e de São Paulo para os Estados Unidos (GC: 55,25; PP: 0,81).

Para o Clade III, o TMRCA foi estimado em 18 de setembro de 2022 (95% HPD: 31 de julho de 2022 a 1º de novembro de 2022), com uma taxa evolutiva mediana de  $5,44 \times 10^{-4}$  (95% HPD:  $4,32 \times 10^{-4}$  a  $6,58 \times 10^{-4}$ ) (Fig. S8). Os procedimentos da BSSVS mostraram taxas bem suportadas de difusão posterior originada do Tocantins para a região Norte (Pará – BF: 109,37; PP: 0,86), para a região Nordeste (Bahia – BF: 75,91; PP: 0,81) para a região Centro-Oeste. Região Oeste (Distrito Federal – BF: 183,52; PP: 0,91 e Mato Grosso do Sul – BF: 54,57; PP: 0,75), à região Sul (Paraná – BF: 22,20; PP: 0,55) e região Sudeste (Minas Gerais – GC: 23,01; Por fim, a reconstrução arbórea também mostrou migrações importantes de Mato Grosso do Sul para os Estados Unidos (FB: 107,22; PP: 0,85) e Santa Catarina (FB: 70,96; PP: 0,79), do Pará para a Paraíba (FB: 75,96; PP : 0,81) e do Rio de Janeiro a Sergipe (BF: 72,14; PP: 0,79). Além disso, em todos os três clados, observou-se que as sequências do Tocantins agruparam-se predominantemente no mesmo clado, indicando um nível potencialmente alto de transmissão local entre cidades do estado.

#### **4. DISCUSSÃO**

Neste estudo, apresentamos os resultados da pesquisa epidemiológica molecular do SARS-CoV-2 conduzida no estado do Tocantins, Brasil, abrangendo dezembro de 2021 a junho de 2023. Durante esse período, nossa investigação revela que as principais sublinhagens da

variante Ômicron moldaram predominantemente o cenário do SARS-CoV-2 no Tocantins. A Ômicron foi identificada pela primeira vez em Botsuana (OMS, 2022). Posteriormente, alguns meses após a confirmação do primeiro caso, suas sublinhagens foram observadas por vários pesquisadores e reconhecidas internacionalmente. Em 22 de fevereiro de 2022, a OMS relatou duas sublinhagens: BA.1 (B.1.1.529.1) e BA.2 (B.1.1.529.2) (OMS, 2022). Posteriormente, em setembro de 2022, a linhagem XBB foi identificada, originada de eventos de recombinação envolvendo duas linhagens derivadas de BA.2 (BJ.1 e BM.1.1.1), e progressivamente substituiu a maioria das cepas anteriores de Ômicron (Wang et al., 2022; Miller et al., 2023). As variantes XBB subsequentemente substituíram as variantes Ômicron anteriormente circulantes no início de 2023. Em outubro de 2023, as principais linhagens de XBB representavam aproximadamente 80% das sequências virais relatadas (Planas et al., 2024).

Durante o período analisado neste estudo, observou-se uma presença notável da linhagem XBB.1.18.1 no Tocantins. O primeiro genoma dessa linhagem no estado foi identificado em janeiro de 2023. De acordo com dados do GISAID (Outbreak, 2023) até seu último registro de sequenciamento, 206 sequências confirmadas foram observadas entre as 1350 registradas em todo o mundo, uma cepa que foi detectada em pelo menos 36 países. Apresentamos uma análise abrangente da difusão da linhagem XBB.1.18.1 no estado do Tocantins.

Embora essa variante tenha circulado por aproximadamente 10 meses no Brasil, nossos resultados sugerem que o Tocantins provavelmente desempenhou um papel fundamental em sua disseminação. Apesar de reconhecer a influência de fontes internacionais na formação da diversidade SARS-CoV-2, nossos resultados revelam que a linhagem XBB.1.18.1 exibiu suas taxas de dispersão mais altas dentro do país. Notadamente, a região Centro-Oeste do Brasil recebeu o maior número de importações do Tocantins, seguida pelo Nordeste e Norte, além de países fora do Brasil. Esse padrão observado pode ser elucidado por vários fatores-chave. O Tocantins possui uma importante rota comercial com o Centro-Oeste do Brasil, e a Rodovia Federal Transbrasiliana (BR-153) que corta a região promove um grande fluxo de pessoas. Essa maior mobilidade humana intensifica a circulação do vírus, aumentando a probabilidade de sua disseminação. O papel das rodovias na disseminação do vírus tem sido objeto de estudos anteriores (Carmo et al., 2020; Nicoletis et al., 2021; de Souza et al., 2022).

Ao avaliar a introdução e disseminação da variante no Tocantins, é importante levar em conta também as rotas internacionais. Estudos prévios têm demonstrado particular vulnerabilidade no Brasil a potenciais migrações internacionais não regulamentadas de países vizinhos e a conseqüente importação de doenças imunopreveníveis (Fujita et al., 2018; Tuite et

al., 2018).

A questão das rotas de transporte interno no Brasil utilizadas para a circulação de mercadorias e pessoas, e posteriormente facilitando a disseminação de vírus, merece maiores investigações. Vários estudos têm demonstrado esse fenômeno com doenças como dengue (Souza et al., 2023), CHIKV (Souza et al., 2022) e até mesmo SARS-CoV-2 (Lamarca et al., 2023). Em todos esses casos, as grandes cidades, particularmente São Paulo e Rio de Janeiro, servem como hubs para receber vírus por rotas internacionais e disseminá-los por todo o Brasil. O Brasil, com uma alta taxa de vacinação contra a Covid-19 de 77,86% da população tendo recebido duas doses (Saúde, 2023), deve ser cauteloso para evitar a importação de variantes de países com taxas de vacinação mais baixas. Para tal, é necessário reforçar as medidas nos aeroportos. No nível do transporte rodoviário, os esforços devem incluir a vacinação dos caminhoneiros, a criação de postos de controle e centros de diagnóstico rápido ao longo de rodovias e terminais de ônibus e a agregação de dados para fins de tomada de decisão, como a administração de doses adicionais em regiões ou cidades específicas do país.

A reconstrução ancestral e a análise filogeográfica utilizadas neste estudo permitiram identificar taxas bem sustentadas de difusão posterior originárias do Tocantins para países além do Brasil, particularmente os EUA. Embora a literatura limitada exista especificamente sobre a linhagem XBB.1.18.1, outros estudos forneceram conhecimento da circulação das linhagens XBB nos EUA. Ma et al. (2023) destacaram em seu estudo que, em meados de maio de 2023, as linhagens Ômicron comumente circulantes eram XBB.1.5 (61,5%; 95% CI = 56,4%–66,4%), XBB.1.9.1 (10,0%; 95% CI = 6,8%–14,1%) e XBB.1.16 (9,4%; 95% CI = 6,9%–12,5%), com aproximadamente uma prevalência combinada de 19% de outras linhagens circulantes, incluindo XBB (5,3%), XBB.1.9.2 (4,5%), XBB.2.3 (3,2%), XBB.1.16.1 (2,4%) e XBB.1.5.1 (1,9%). Ramaiah et al. (2023) utilizando abordagens filogenéticas de máxima verossimilhança e comparação de sequências genéticas, identificaram a transmissibilidade de cepas específicas de XBB.1.5 circulantes nas populações do sudeste de Wisconsin, EUA.

O cenário mutacional dinâmico apresenta desafios e incertezas contínuas. Essabbar et al. (2024) relatam que futuras cepas dominantes provavelmente emergirão de cepas recombinantes, enfatizando a necessidade de vigilância genômica contínua, compartilhamento global de dados e esforços colaborativos de pesquisa. A preocupação com a dinâmica mutacional também se aplica à compreensão da evolução das mutações no vírus. Em nossos resultados, a prevalência das sublinhagens do XBB é digna de nota. Taylor e Starr (2023), utilizando as sublinhagens BQ.1.1 e XBB.1.5 e comparando padrões mutacionais, encontraram muitas mutações que são toleradas ou mesmo aumentam a ligação ao receptor ACE2.

Em conclusão, nosso estudo lança luz sobre a epidemiologia molecular do SARS-CoV-2 no Estado do Tocantins, Brasil, de dezembro de 2021 a junho de 2023, destacando a presença predominante da linhagem XBB.1.18.1. Apesar de seu surgimento a partir de fontes internacionais, nossos achados sugerem que o Tocantins desempenhou um papel fundamental na disseminação dessa linhagem no Brasil, particularmente devido às suas extensas rotas comerciais e à alta mobilidade humana facilitada pela rodovia transbrasileira (denominada BR-153). No entanto, o estudo apresenta limitações. Embora nossa análise forneça insights valiosos sobre a disseminação local e internacional da linhagem XBB.1.18.1, o escopo do estudo é limitado a dados genômicos e epidemiológicos, e investigações adicionais são necessárias para elucidar fatores adicionais que influenciam a dinâmica de transmissão do vírus. Além disso, a rápida evolução das variantes do SARS-CoV-2 e o surgimento de novas sublinhagens colocam desafios contínuos, ressaltando a importância da vigilância genômica contínua para informar intervenções de saúde pública e medidas de controle de forma eficaz.

### **Materiais Suplementares**

As informações complementares podem ser acessadas em: <https://www.mdpi.com/article/xxxx>. Inclui as seguintes figuras: **Figura S1.** Regressão raiz-a-ponta de distâncias genéticas e datas de amostragem para 1.073 genomas SARS-CoV-2 da linhagem XBB.1.18.1 em regiões globais. **Figura S2.** Regressão raiz-a-ponta de distâncias genéticas e datas de amostragem para 106 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 Clade I em regiões globais. **Figura S3.** Regressão raiz-a-ponta de distâncias genéticas e datas de amostragem para 96 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 Clade II em regiões globais. **Figura S4.** Regressão raiz-a-ponta de distâncias genéticas e datas de amostragem para 132 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 Clade III em regiões globais. **Figura S5.** Distribuição Temporal das Regiões Importadoras da Linhagem XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 no Estado do Tocantins. **Figura S6.** Árvore filogenética bayesiana em escala de tempo de 106 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 em regiões globais. Os locais de amostragem são codificados por cores conforme a legenda no lado esquerdo da árvore. Os genomas do Tocantins, destacados neste estudo, estão destacados em vermelho. **Figura S7.** Árvore filogenética Bayesiana em escala de tempo de 96 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 em regiões globais. Os locais de amostragem são codificados por cores conforme a legenda no lado esquerdo da árvore. Os genomas do Tocantins, destacados neste estudo, estão destacados em vermelho. **Figura S8.** Árvore filogenética Bayesiana em escala de tempo de 132 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 em regiões globais. Os locais de amostragem são codificados por

cores conforme a legenda no lado esquerdo da árvore. Os genomas do Tocantins, destacados neste estudo, estão destacados em vermelho.

### **Contribuições do autor**

Concebeu e projetou os experimentos: UJBdS, FDPC; JDG, FRS e FSC Realizaram os experimentos: UJBdS, MSS e FDPC Analisaram os dados: UJBdS, MSS, FRS e FSC Contribuíram na redação do manuscrito: MSS, UJBdS, FRS e FSC Revisaram o manuscrito: UJBdS, MSS, FDPC, JD,G., CMAS, FRS e FSC Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

### **Financiamento**

Esta pesquisa recebeu financiamento da Rede Corona-ômica BR MCTI/FINEP (<http://www.corona-omica.br-mcti.lncc.br>, acessado em 12 de janeiro de 2024) afiliada à RedeVírus/MCTI (FINEP = 01.20 .0029.000462/20, CNPq = 404096/2020-4).

### **Declaração do Conselho de Revisão Institucional**

Não aplicável.

### **Declaração de consentimento informado**

Não aplicável.

### **Declaração de disponibilidade de dados**

Não aplicável.

### **Agradecimentos**

Estendemos a nossa sincera gratidão à Iniciativa Global sobre Partilha de Dados da Gripe Aviária-EpiCoV (GISAID-EpiCoV) por fornecer e atualizar regularmente os dados na sua plataforma (<https://www.gisaid.org/>, acessado em 02 de março de 2024). A UJBdS recebeu bolsa de pós-doutorado (DTI-A) do CNPq. CMAS, FSC e FRS são bolsistas de pesquisa do CNPq.

### **Conflitos de interesse**

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## REFERÊNCIAS

AKSAMENOV, I. et al. Nextclade: atribuição de clados, identificação de mutações e controle de qualidade para genomas virais. **Journal of Open Source Software**, [s. l.], v. 6, n. 67, p. 3773, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21105/joss.03773>.

ALEEM, A.; AKBAR SAMAD, A. B.; VAQAR, S. Variantes emergentes do SARS-CoV-2 e novas terapêuticas contra o coronavírus (COVID-19) [Atualizado em 8 de maio de 2023]. In: STATPEARLS [Internet]. Ilha do Tesouro (FL): **Publicação StatPearls, 2024**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570580/>. Acesso em: 17 jun. 2024.

AYRES, D. L.; DARLING, A.; ZWICKL, D. J. et al. BEAGLE: uma interface de programação de aplicativos e biblioteca de computação de alto desempenho para filogenética estatística. **Systematic Biology**, [s. l.], v. 61, n. 1, p. 170-173, 2012. DOI: 10.1093/sysbio/syr100.

CALLAWAY, E. A variante COVID de rápida propagação pode escapar das respostas imunológicas. **Nature**, [s. l.], v. 589, n. 7843, p. 500-501, 2021. DOI: 10.1038/d41586-021-00121-z. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/d41586-021-00121-z>.

CAO, Y.; JIAN, F.; WANG, J. et al. A imunidade humoral impressa do SARS-CoV-2 induz a evolução convergente do Omicron RBD. **bioRxiv**, [s. l.], p. 2022.09.15.507787, 2022.

CARMO, R. F. et al. Expansão da COVID-19 no Brasil: a importância das rodovias. **Journal of Travel Medicine**, [s. l.], v. 27, n. 5, p. taaa106, 2020. DOI: 10.1093/jtm/taaa106.

CEVIK, M.; TATE, M.; LLOYD, O. et al. Dinâmica da carga viral de SARS-CoV-2, SARS-CoV e MERS-CoV, duração da eliminação viral e infecciosidade: uma revisão sistemática e meta-análise. **The Lancet Microbe**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. e13-e22, 2021. DOI: 10.1016/S2666-5247(20)30172-5.

DE SOUZA, U. J. B. et al. Epidemiologia Genômica do SARS-CoV-2 no Estado do Tocantins e a Difusão das Linhagens P.1.7 e AY.99.2 no Brasil. **Viruses**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 659, 2022. DOI: 10.3390/v14040659.

DYER, O. Covid-19: As infecções aumentam globalmente à medida que a variante EG.5 ganha terreno. **BMJ**, [s. l.], v. 382, p. 1900, 2023. DOI: 10.1136/bmj.p1900.

ESSABBAR, A. et al. Dinâmica temporal e paisagem genômica do SARS-CoV-2 após quatro anos de evolução. **Cureus**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. e53654, 2024. DOI: 10.7759/cureus.53654.

FERREIRA, M. A. R.; SUCHARD, M. A. Análise bayesiana de tempos decorridos em cadeias de Markov de tempo contínuo. **Portugaliae Mathematica**, [s. l.], v. 36, p. 355–368, 2008.

FUJITA, D. M. et al. A diminuição das taxas de cobertura vacinal leva ao aumento da vulnerabilidade à importação de doenças imunopreveníveis no Brasil. **Journal of Travel Medicine**, [s. l.], v. 25, 2018. DOI: 10.1093/jtm/tay100.

GILL, M. S.; LEMEY, P.; FARIA, N. R.; RAMBAUT, A.; SHAPIRO, B.; SUCHARD, M. A. Melhorando a inferência da dinâmica populacional bayesiana: um modelo baseado em coalescência para múltiplos loci. **Molecular Biology and Evolution**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 713-724, 2013. DOI: 10.1093/molbev/mss265.

GIOVANETTI, M.; BENEDETTI, F.; CAMPISI, G. et al. Padrões de evolução do SARS-CoV-2: instantâneo de suas variantes do genoma. **Biochemistry and Biophysics Reports**, [s. l.], v. 538, p. 88-91, 29 jan. 2021. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.10.102.

GOH, A. X. C.; CHAE, S. R.; CHIEW, C. J. et al. Características da onda subvariante omicron XBB em Cingapura. **The Lancet**, [s. l.], v. 401, p. 1261–1262, 2023.

JUNG, C.; KMIEC, D.; KOEPKE, L. et al. Omicron: O que torna a última variante preocupante do SARS-CoV-2 tão preocupante? **Journal of Virology**, [s. l.], v. 96, n. 6, p. e0207721, 2022. DOI: 10.1128/jvi.02077-21.

KAKU, Y.; KOSUGI, Y.; URIU, K. et al. Eficácia antiviral dos soros de infecção inovadora SARSCoV-2 XBB contra subvariantes Omicron incluindo EG.5. **bioRxiv**, [s. l.], p. 2023.2008.2008.552415, 2023. DOI: 10.1101/2023.08.08.552415.

KALYAANAMOORTHY, S.; MINH, B. Q.; WONG, T. K. F.; VON HAESELER, A.;

JERMIIN, L. S. ModelFinder: seleção rápida de modelos para estimativas filogenéticas precisas. **Nature Methods**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 587-589, 2017. DOI: 10.1038/nmeth.4285.

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. Serviço online MAFFT: alinhamento de múltiplas sequências, escolha e visualização interativa de sequências. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 1160-1166, 2019. DOI: 10.1093/bib/bbx108.

KOPSIDAS, I.; KARAGIANNIDOU, S.; KOSTAKI, E. G. et al. Distribuição global, padrões de dispersão e tendência de várias subvariantes ômicron do SARS-CoV-2 em todo o mundo. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, [s. l.], v. 7, n. 11, p. 373, 2022. DOI: 10.3390/tropicalmed7110373.

KORBER, B.; FISCHER, W. M.; GNANAKARAN, S. et al. Rastreamento alterações no pico de SARS-CoV-2: evidências de que D614G aumenta a infectividade do vírus COVID-19. **Cell**, [s. l.], v. 182, n. 4, p. 812-827.e19, 20 ago. 2020. DOI: 10.1016/j.cell.2020.06.043.

KURHADE, C.; ZOU, J.; XIA, H. et al. Baixa neutralização de SARS-CoV-2 Omicron BA.2.75.2, BQ.1.1 e XBB.1 por vacina parental de mRNA ou um reforço bivalente BA.5. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 29, p. 344-347, 2023. DOI: 10.1038/s41591-022-02162-x.

LAMARCA, A. P. et al. As linhagens Omicron BA.1 e BA.2 (Betacoronavirus SARS-CoV-2) entraram repetidamente no Brasil através de um único centro de dispersão. **Viruses**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 888, 2023.

LARSSON, A. AliView: um visualizador e editor de alinhamento rápido e leve para grandes conjuntos de dados. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 30, n. 22, p. 3276-3278, 2014. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu531.

LEMEY, P.; RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. J.; SUCHARD, M. A. A filogeografia bayesiana encontra suas raízes. **PLoS Computational Biology**, [s. l.], v. 5, n. 9, p. e1000520, 2009. DOI: 10.1371/journal

LI, H. Minimap2: alinhamento de pares para sequências de nucleotídeos. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 34, n. 18, p. 3094-3100, 2018. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty191.

LU, H.; GIORDANO, F.; NING, Z. Sequenciamento e montagem do genoma Oxford Nanopore MinION. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, [s. l.], v. 14, n. 5, p. 265-279, 2016. DOI: 10.1016/j.gpb.2016.05.004.

MA, K. C. et al. Vigilância genômica para variantes do SARS-CoV-2: circulação de linhagens Omicron — Estados Unidos, janeiro de 2022 a maio de 2023. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, [s. l.], v. 72, p. 651–656, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7224a2>.

MILLER, J. et al. Escape de neutralização substancial pelas variantes BQ.1.1 e XBB.1 do SARS-CoV-2 Omicron. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], 2023.

MINH, B. Q.; SCHMIDT, H. A.; CHERNOMOR, O. et al. IQ-TREE 2: Novos modelos e métodos eficientes para inferência filogenética na era genômica [a correção publicada aparece em Mol Biol Evol. 1º de agosto de 2020;37(8):2461]. **Molecular Biology and Evolution**, [s. l.], v. 37, n. 5, p. 1530-1534, 2020. DOI: 10.1093/molbev/msaa015.

NGIAM, J. N.; AL-MUBAARAK, A.; MAURER-STROH, S.; TAMBYAH, P. A. A subvariante omicron XBB COVID-19 sinaliza o início do fim da pandemia. **Singapore Medical Journal**, [s. l.], v. 0, n. 0, 2022.

NICOLELIS, M. A. L.; RAIMUNDO, R. L. G.; PEIXOTO, P. S.; ANDREAZZI, C. S. O impacto das cidades superespalhadoras, das rodovias e da disponibilidade de cuidados intensivos nos estágios iniciais da epidemia de COVID-19 no Brasil. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 13001, 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-92263-3.

OMS, Organização Mundial da Saúde. Declaração sobre sublinhagem Omicron BA.2, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/22-02-2022-statement-on-omicron-sublineage-ba.2>. Acesso em: 22 jul. 2022.

OMS, Organização Mundial da Saúde. Melhorar a Preparação Omicron (B.1.1.529): Resumo Técnico e Acções Prioritárias para os Estados-Membros. 2022. Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/technical-brief-and-priority-action-on-omicron.pdf?sfvrsn=50732953\\_3](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/technical-brief-and-priority-action-on-omicron.pdf?sfvrsn=50732953_3). Acesso em: 23 jul. 2022.

OMS, Organização Mundial da Saúde. Pandemia da doença por coronavírus (COVID-19). <https://www.who.int/emergencies/disease/novel-coronavirus-2019>. Acessado em 27 de setembro de 2023.

ORME, D.; FRECKLETON, R.; THOMAS, G.; PETZOLDT, T.; FRITZ, S.; ISAAC, N.; PEARSE, W. Caper: Análises comparativas de filogenética e evolução no pacote R. R version 0.5. **Proceedings of the Royal Society B**, [s. l.], v. 2, p. 458, 2012.

OUDE MUNNINK, B. B.; NIEUWENHUIJSE, D. F. Sequenciamento rápido do genoma completo do SARS-CoV-2 para tomada de decisões informadas em saúde pública. **Nature Reviews Genetics**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 347-351, 2021.

OUTBREAK INFO. Disponível em: [https://outbreak.info/situation-reports?pango=XBB.1.18.1&selected=USA\\_US-NE&loc=USA&loc=USA\\_US-CA&loc=BRA\\_BR-TO&loc=USA\\_US-NE&loc=BRA&overlay=false](https://outbreak.info/situation-reports?pango=XBB.1.18.1&selected=USA_US-NE&loc=USA&loc=USA_US-CA&loc=BRA_BR-TO&loc=USA_US-NE&loc=BRA&overlay=false). Acesso em: [23 de dezembro de 2023].

PLANAS, D.; STAROPOLI, I.; MICHEL, V. et al. Evolução distinta das linhagens SARS-CoV-2 Omicron XBB e BA.2.86/JN.1 combinando maior aptidão e evasão de anticorpos. Pré-impressão. **bioRxiv**, [s. l.], 2024. DOI: 10.1101/2023.11.20.567873.

PLANAS, D.; VEYER, D.; BAIDALIUK, A. et al. Sensibilidade reduzida da variante Delta do SARS-CoV-2 à neutralização de anticorpos. **Nature**, [s. l.], v. 596, p. 276–280, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03777-9>.

RAMAIAH, A. et al. Vigilância genômica revela a rápida expansão da linhagem XBB entre linhagens Omicron SARS-CoV-2 circulantes no sudeste de Wisconsin, EUA. **Viruses**, [s. l.], v. 15, n. 9, p. 1940, 2023. DOI: 10.3390/v15091940.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. J.; XIE, D.; BAELE, G.; SUCHARD, M. A. Sumarização Posterior em Filogenética Bayesiana Usando Tracer 1.7. **Systematic Biology**, [s. l.], v. 67, n. 5, p. 901-904, 2018. DOI: 10.1093/sysbio/syy032.

RAMBAUT, A.; HOLMES, E. C.; O'TOOLE, Á. et al. Uma proposta dinâmica de nomenclatura para linhagens de SARS-CoV-2 para auxiliar a epidemiologia genômica. **Nature Microbiology**, [s. l.], v. 5, n. 11, p. 1403-1407, 2020. DOI: 10.1038/s41564-020-0770-5.

RAMBAUT, A.; LAM, T. T.; MAX CARVALHO, L.; PYBUS, O. G. Explorando a estrutura temporal de sequências heterócronas usando TempEst (anteriormente Path-O-Gen). **Virus Evolution**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. vew007, 2016. DOI: 10.1093/ve/vew007.

SAGULENKO, P.; PULLER, V.; NEHER, R. A. TreeTime: Análise filodinâmica de máxima verossimilhança. **Virus Evolution**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. vex042, 2018. DOI: 10.1093/ve/vex042.

SAÚDE, Ministério da Saúde. Disponível em: [https://infoms.saude.gov.br/extensions/SEIDIGI\\_DEMAS\\_Vacina\\_C19/SEIDIGI\\_DEMAS\\_Vacina\\_C19.html](https://infoms.saude.gov.br/extensions/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19.html). Acesso em: 17 de junho de 2024.

SES-TO, Secretaria Estadual de Saúde do Tocantins. Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde, 2023.

SOUZA, U. J. B. et al. Circulação do genótipo V do sorotipo 1 do vírus da dengue e do genótipo III do sorotipo 2 do vírus da dengue no estado do Tocantins, Norte do Brasil, 2021–2022. **Viruses**, [s. l.], 2023.

SOUZA, U. J. B. et al. Epidemiologia genômica revela a circulação da linhagem leste/central/sul do vírus Chikungunya no estado do Tocantins, norte do Brasil. **Viruses**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 2311, 2022.

SUCHARD, M. A.; LEMEY, P.; BAELE, G.; AYRES, D. L.; DRUMMOND, A. J.; RAMBAUT, A. Integração de dados filogenéticos e filodinâmicos bayesianos usando BEAST 1.10. **Virus Evolution**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. vey016, 2018. DOI: 10.1093/ve/vey016.

TAMURA, T.; ITO, J.; URIU, K. et al. Características virológicas da variante SARS-CoV-2 XBB derivada da recombinação de duas subvariantes ômicron. **Nature Communications**, [s. l.], v. 14, p. 2800, 2023.

TAYLOR, A. L.; STARR, T. N. Varreduras mutacionais profundas de XBB.1.5 e BQ.1.1 revelam deriva epistática contínua durante a evolução do SARS-CoV-2. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 19, n. 12, p. e1011901, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011901>.

TUITE, A. R. et al. Implicações em doenças infecciosas da migração em grande escala de cidadãos venezuelanos. **Journal of Travel Medicine**, [s. l.], v. 25, 2018. DOI: [10.1093/jtm/tay077](https://doi.org/10.1093/jtm/tay077).

URAKI, R.; ITO, M.; KISO, M. et al. Eficácia da vacina antiviral e bivalente contra um isolado omicron XBB.1.5. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], v. 23, p. 402-403, 2023. DOI: [10.1016/S1473-3099\(23\)00070-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00070-1).

VELAVAN, T. P.; NTOUMI, F.; KREMSNER, P. G.; LEE, S. S.; MEYER, C. G. Emergência e dominância geográfica das subvariantes omicron XBB/XBB.1.5 e BF.7 – os desafios de saúde pública. **International Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 128, p. 307–309, 2023.

WANG, Q. et al. Propriedades alarmantes de evasão de anticorpos das subvariantes BQ e XBB do SARS-CoV-2 em ascensão. **Cell**, [s. l.], 2022.

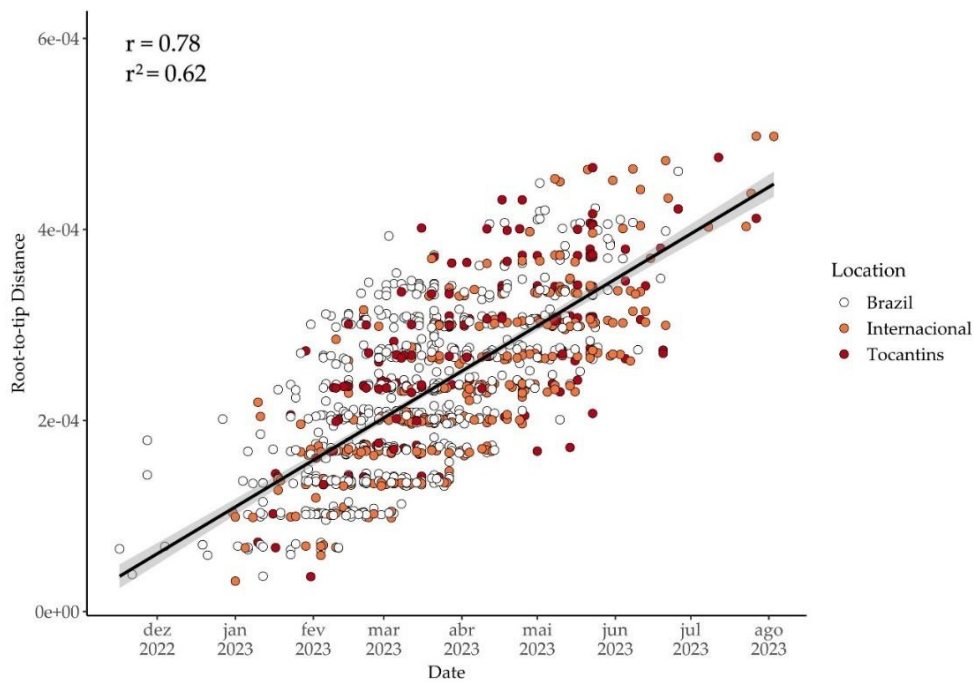
WANG, Q.; IKETANI, S.; LI, Z. et al. Propriedades alarmantes de evasão de anticorpos das subvariantes BQ e XBB do SARS-CoV-2 em ascensão. **Cell**, [s. l.], v. 186, p. 279-286 e278, 2023. DOI: [10.1016/j.cell.2022.12.018](https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.018).

YAMASOBA, D.; URIU, K.; PLIANCHAIKUK, A. et al. Características virológicas da variante SARS-CoV-2 omicron XBB.1.16. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], v. 23, p. 655-656, 2023. DOI: [10.1016/S1473-3099\(23\)00278-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00278-5).

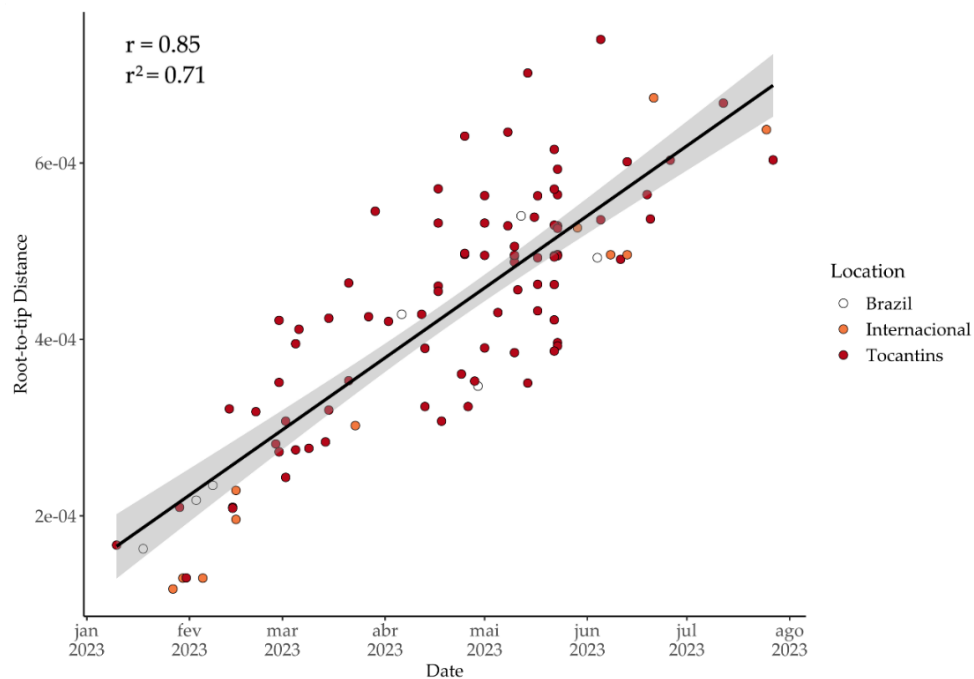
YU, G.; SMITH, D. K.; ZHU, H.; GUAN, Y.; LAM, T. T. ggtree: Um pacote r para visualização e anotação de árvores filogenéticas com suas covariáveis e outros dados associados. **Methods in Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 8, p. 28–36, 2017.

YUE, C.; SONG, W.; WANG, L. et al. Ligação de ACE2 e evasão de anticorpos em maior transmissibilidade de XBB.1.5. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], v. 23, p. 278-280, 2023. DOI: [10.1016/S1473-3099\(23\)00010-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00010-5).

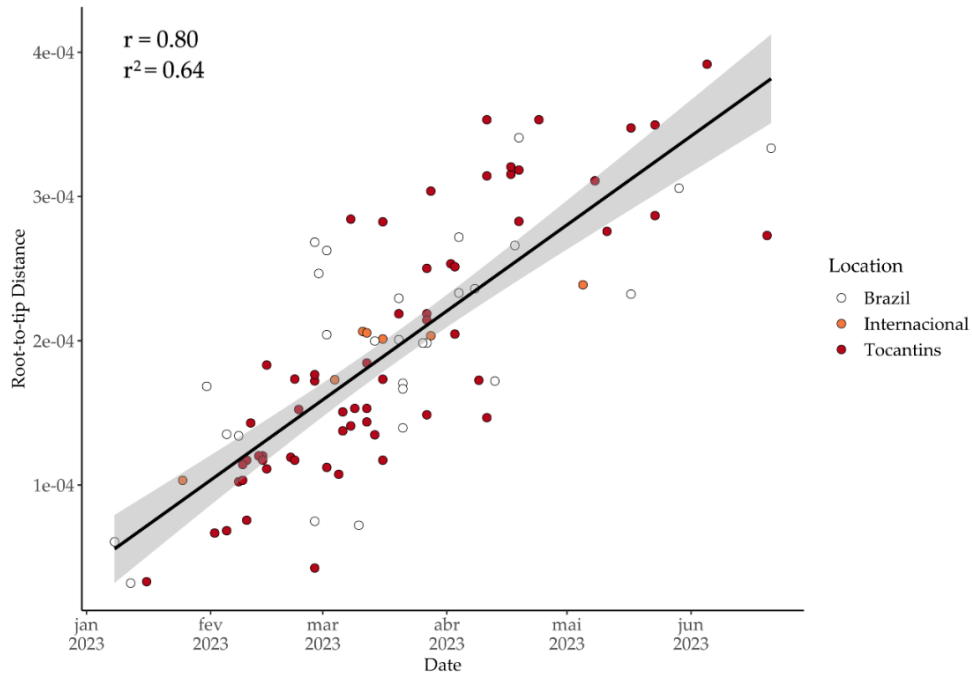
## Material suplementar



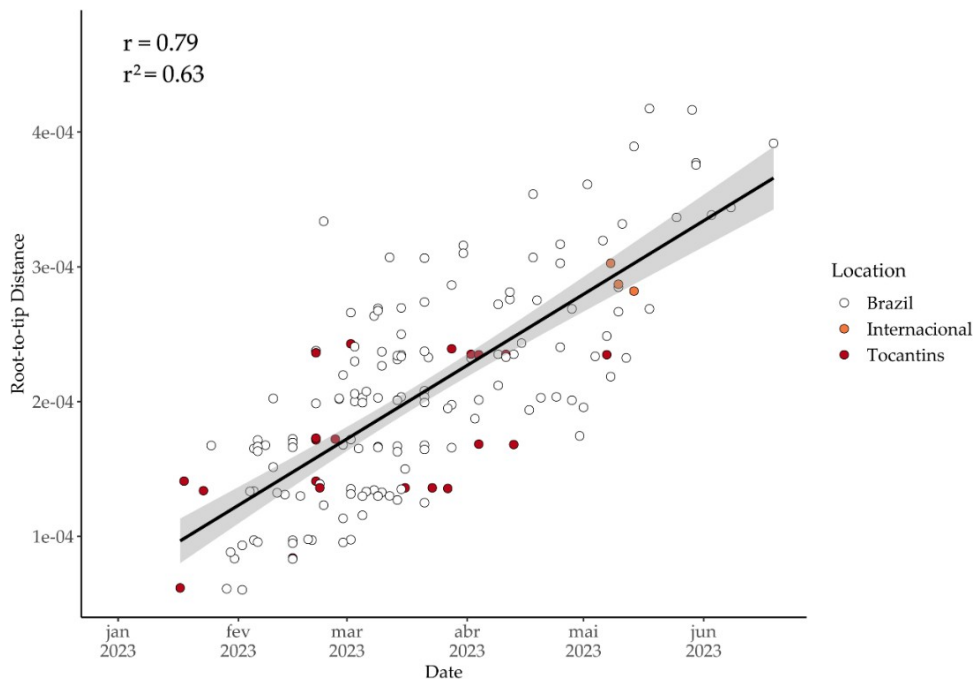
**Figura S1.** Regressão raiz-a-ponta de distâncias genéticas e datas de amostragem para 1.073 genomas SARS-CoV-2 da linhagem XBB.1.18.1 em regiões globais. O coeficiente de correlação ( $r$ ) e ao quadrado estão representados acima do gráfico.



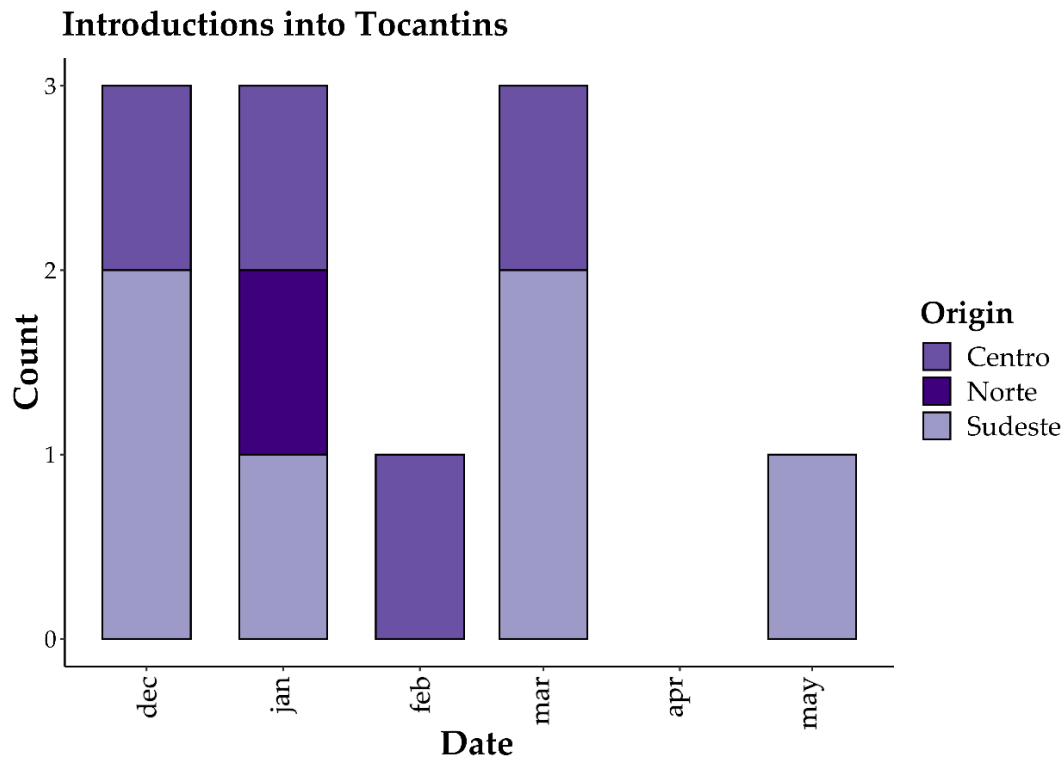
**Figura S2.** Regressão raiz-a-ponta de distâncias genéticas e datas de amostragem para 106 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 Clade I em regiões globais. O coeficiente de correlação ( $r$ ) e ao quadrado estão representados acima do gráfico.



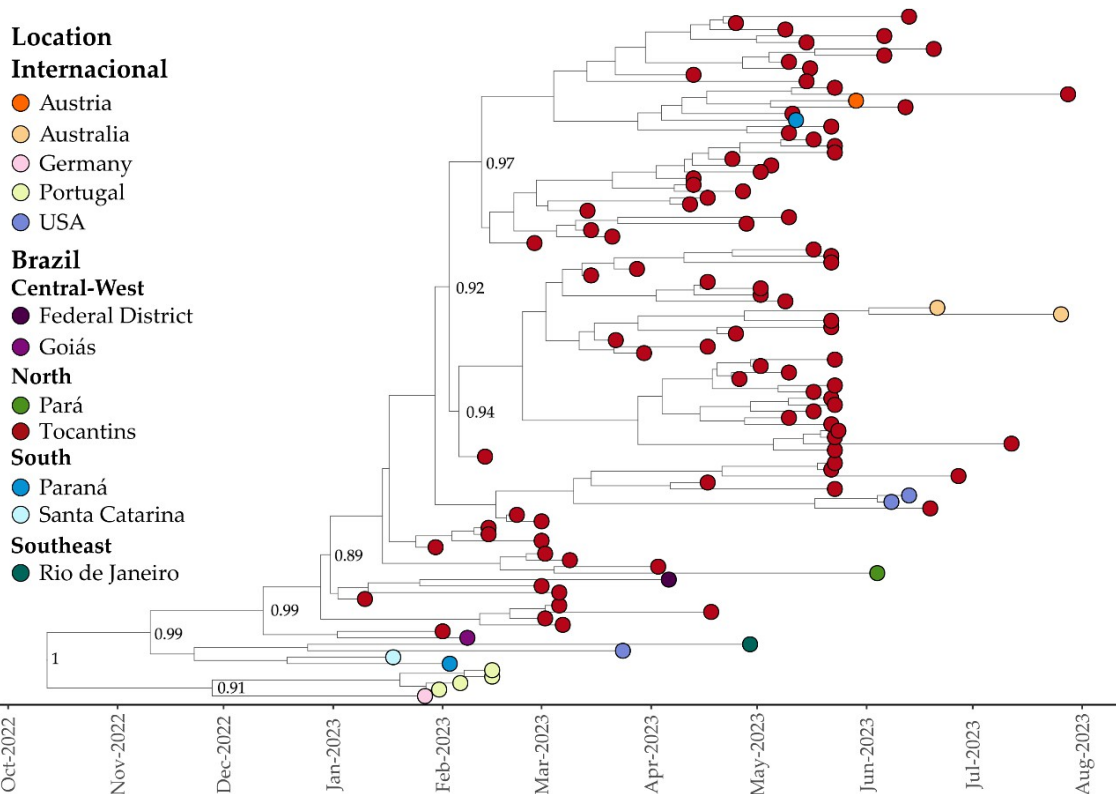
**Figura S3.** Regressão raiz-a-ponta de distâncias genéticas e datas de amostragem para 96 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 Clade II em regiões globais. O coeficiente de correlação ( $r$ ) e ao quadrado estão representados acima do gráfico.



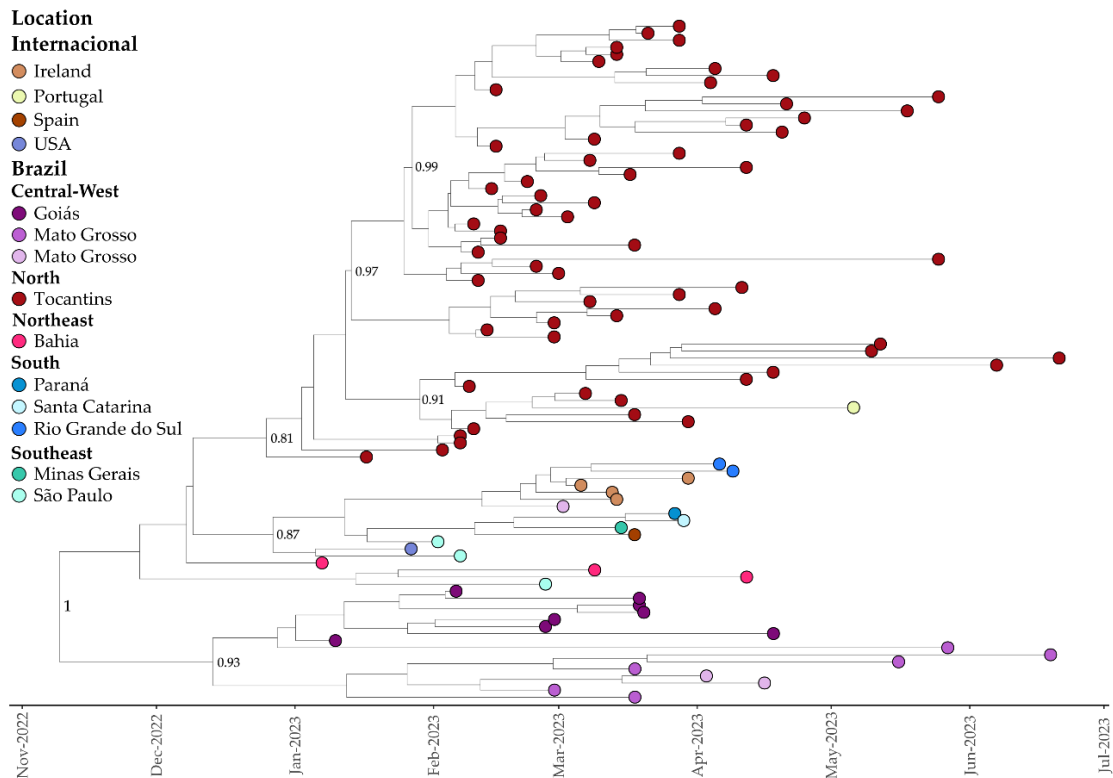
**Figura S4.** Regressão raiz-a-ponta de distâncias genéticas e datas de amostragem para 132 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 Clade III em regiões globais. O coeficiente de correlação ( $r$ ) e ao quadrado estão representados acima do gráfico.



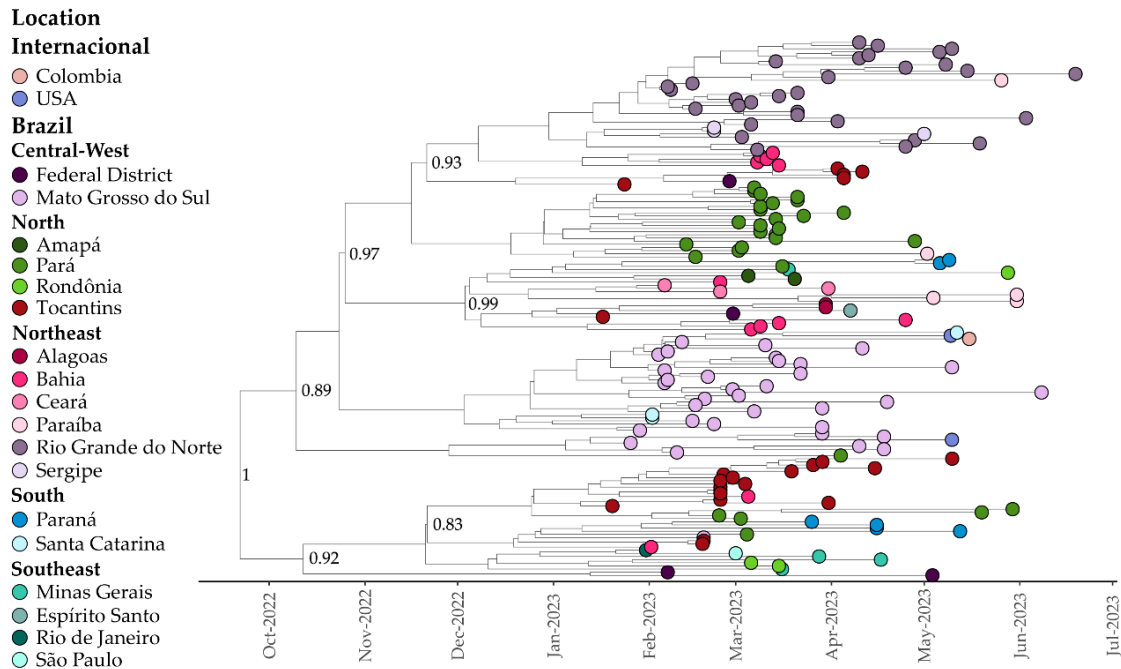
**Figura S5.** Distribuição Temporal das Regiões Importadoras da Linhagem XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 no Estado do Tocantins. As legendas nos gráficos indicam as regiões de origem correspondentes.



**Figura S6.** Árvore filogenética bayesiana em escala de tempo de 106 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 em regiões globais. Os locais de amostragem são codificados por cores conforme a legenda no lado esquerdo da árvore. Os genomas do Tocantins, destacados neste estudo, estão destacados em vermelho.



**Figura S7.** Árvore filogenética Bayesiana em escala de tempo de 96 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 em regiões globais. Os locais de amostragem são codificados por cores conforme a legenda no lado esquerdo da árvore. Os genomas do Tocantins, destacados neste estudo, estão destacados em vermelho.



**Figura S8.** Árvore filogenética Bayesiana em escala de tempo de 132 amostras XBB.1.18.1 SARS-CoV-2 em regiões globais. Os locais de amostragem são codificados por cores conforme a legenda no lado esquerdo da árvore. Os genomas do Tocantins, destacados neste estudo, estão destacados em vermelho.

## LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Foram limitações do presente estudo:

- ✓ A demora na atualização de registros de depósitos de sequências no GISAID no ano de 2024, sobretudo a respeito da variante selecionada para as análises do presente estudo.
- ✓ O número limitado de amostras positivas para as linhagens XBB.1.18.1 no primeiro semestre de 2023, o que pode ter sido influenciado devido a taxa de imunização do estado com consequente diminuição do número de casos.
- ✓ Impossibilidade de realizar uma comparação entre as linhagens XBB.1.18.1 e variantes posteriores;

## 6 CONCLUSÕES GERAIS

---

- A análise evidenciou maior número de participantes do sexo feminino em comparação com o sexo masculino.
- Do total de amostras sequenciadas no estado do Tocantins, foram identificadas a circulação de 39 sublinhagens Ômicron.
- Grande parte das amostras (230) foram provenientes da cidade de Palmas do Tocantins, sendo que todas aquelas positivas para XBB.1.18.1 (22) foram obtidas de indivíduos residentes no referido município.
- O sequenciamento de amostras obtidas entre janeiro a junho de 2023 revelou a circulação de novas VOCs do SARS-CoV-2 no estado do Tocantins, em especial as subvariantes XBB.1.18.1 e XBB.1.5 que podem ter impacto na epidemiologia da COVID-19.
- Comparando esses resultados com as nossas investigações por meios das análises filogenéticas e de dispersão, sugere-se que o estado possa ter contribuído de forma bem maior na dispersão da variante, não somente no Brasil, mas também no mundo.

## 7 RECOMENDAÇÕES

---

- ✓ Realização de estudos de dinâmica molecular envolvendo as variantes mais recentes da Ômicron, visto que poucos manuscritos são encontrados nas bases de dados;

## REFERÊNCIAS

---

- AFONSO, E.T.; et al. Secondary household transmission of SARS-CoV-2 among children and adolescents: Clinical and epidemiological aspects. **Pediatric Pulmonology**, v. 57, n. 1, p. 162-175, 2022. doi:10.1002/ppul.25711
- AGERER, B. et al. SARS-CoV-2 mutations in MHC-I-restricted epitopes evade CD8+ T cell responses. **Science Immunology**, v. 6, p. eabg6461, 2021. doi: 10.1126/sciimmunol.abg6461.
- AKSAMENOV, I.; ROEMER, C.; HODCROFT, E.B.; NEHER, R.A. Nextclade: Clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. **Journal of Open-Source Software**, v. 6, n. 67, p. 3773, 2021. doi: 10.21105/joss.03773
- AMIB, Associação de Medicina Intensiva Brasileira. Recomendações da Associação de Medicina Intensiva Brasileira para abordagem do COVID-19 em medicina intensiva. Abril de 2020. Disponível em: [https://www.wficc.com/images/Recomendaco\\_\\_es\\_AMIB-05.04.pdf](https://www.wficc.com/images/Recomendaco__es_AMIB-05.04.pdf)
- ARMSTRONG, J. et al. Sequence and topology of a model intracellular membrane protein, E1 glycoprotein, from a coronavirus. **Nature**, v. 308, n. 5961, p. 751-752, 1984.
- BANERJEE, D.; et al. COVID-19 infection in kidney transplant recipients. **Kidney international**, v. 97, n. 6, p. 1076-1082, 2020. doi: 10.1016/j.kint.2020.03.018
- BELOUZARD, S.; CHU, V. C.; WHITTAKER, G. R. Activation of the spike protein of the SARS coronavirus by sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, p. 5871–5876, 2009.
- BENIAC, D. R. et al. Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nature structural & molecular biology*, v. 13, n. 8, p. 751-752, 2006.
- BERGER, J. S. et al. Prevalence and outcomes of D-dimer elevation in hospitalized patients with COVID-19. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 40, n. 10, p. 2539-2547, 2020.
- BOKELMANN, L. et al. Point-of-care mass testing for SARS-CoV-2 by combining hybridization capture with enhanced colorimetric LAMP. **Nature Communications**, v. 12, p. 1467, 2021. doi: 10.1038/s41467-021-21627-0.

BONELLI, F. et al. Clinical and analytical performance of an automated serological test that identifies neutralizing S1/S2 IgG in COVID-19 patients in a semi-quantitative manner. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, 2020. doi:10.1128/JCM.01224-20.

CALLAWAY, E. Fast-spreading COVID variant can elude immune responses. **Nature**, v. 589, n. 7843, p. 500-502, 2021. doi: 10.1038/d41586-021-00121-z

CARABELLI, A. M. et al. SARS-CoV-2 variant biology: immune escape, transmission and fitness. **Nature Reviews Microbiology**, v. 21, n. 3, p. 162-177, 2023. doi:10.1038/s41579-022-00841-7.

CARTER, L. J. et al. Testing techniques and test development for COVID-19 diagnosis. **ACS Central Science**, v. 6, p. 591–605, 2020. doi:10.1021/acscentsci.0c00501.

CASAS-ROJO, J. M. et al. Clinical characteristics of patients hospitalized with COVID-19 in Spain: results from the SEMI-COVID-19 registry. **Revista Clínica Española (English Edition)**, v. 220, n. 8, p. 480-494, 2020.

CELE, S.; JACKSON, L.; KHOURY, D.; KHAN, K.; MOYO-GWETE, T.; TEGALLY, H.; SAN, J.; CROMER, D.; SCHEEPERS, C.; AMOAKO, D.; et al. Omicron evades extensively, but incompletely, neutralization of Pfizer BNT162b2. **Nature**, v. 602, p. 654–656, 2021. doi: 10.1038/s41586-021-04387-1.

CHAN, J. F. W. et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. **Emerging Microbes & Infections**, New York, v. 9, n. 1, p. 221-236, 2020. doi: 10.1080/22221751.2020.1719902.

CHANG, C. K. et al. Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. **Journal of Biomedical Science**, v. 13, n. 1, p. 59-72, 2006.

CHANG, C. K. et al. Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. **Journal of Biomedical Science**, v. 13, n. 1, p. 59-72, 2006.

CHANG, L.; ZHAO, L.; GONG, H.; WANG, L.; WANG, L. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Detected in Blood Donations. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, n. 7, p. 1631-1633, 2020. doi:10.3201/eid2607.200839

CHEN, N.; et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **Lancet**, v. 395, n. 10223, p.507-513, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7

COLIJN, C.; EARN, D. J.; DUSHOFF, J.; OGDEN, N.H.; LI, M.; KNOX, N.; VAN DOMSELAAR, G.; FRANKLIN, K.; JOLLY, G.; OTTO, S. P. The need for linked genomic surveillance of SARS-CoV-2. **Canada Communicable Disease Report**, v. 48, n. 4, p. 131-139, 2022. doi: 10.14745/ccdr.v48i04a03. PMID: 35480703; PMCID: PMC9017802.

COUTARD, B.; et al. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. **Antiviral research**, v. 176, p. 104742, 2020. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104742

DAVIES, N.G.; ABBOTT, S.; BARNARD, R.C.; et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. **Lancet**, v. 372, n. 6538, eabg3055, 2021. doi: 10.1126/science.abg3055

DEDIEGO, M. L. et al. A severe acute respiratory syndrome coronavirus that lacks the E gene is attenuated in vitro and in vivo. **Journal of Virology**, v. 81, n. 4, p. 1701-1713, 2007.

DEDIEGO, M. L. et al. A severe acute respiratory syndrome coronavirus that lacks the E gene is attenuated in vitro and in vivo. **Journal of Virology**, v. 81, n. 4, p. 1701-1713, 2007.

DELMAS, B.; LAUDE, H. Assembly of coronavirus spike protein into trimers and its role in epitope expression. **Journal of Virology**, v. 64, n. 11, p. 5367-5375, 1990.

FARIA, N.R.; MELLAN, T.A.; WHITTAKER, C.; et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. **Science**, v. 372, n. 6544, p. 815-821, 2021. doi: 10.1126/science.abh2644

FEHR, A. R.; PERLMAN, S. Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. **Coronaviruses: Springer**, 2015. p. 1-23.

FEHR, A. R.; PERLMAN, S. Coronaviruses: an overview of their replication an pathogenesis. **Methods Mol. Biol**, v. 1282, p. 1-23, 2015.

FRONHOFFS, S. et al. A method for the rapid construction of standard cRNA curves in real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. **Molecular and Cellular Probes**, v. 16, p. 99–110, 2002. doi:10.1006/mcpr.2002.0405.

GHOSH, S. et al. Coronavirus  $\beta$  use lysosomal organelles for cell output. **bioRxiv**, 2020. doi:10.1101/2020.07.25.192310.

GIERER, S. et al. The spike protein of the emerging betacoronavirus EMC uses a novel coronavirus receptor for entry, can be activated by TMPRSS2, and is targeted by neutralizing antibodies. **Journal of Virology**, v. 87, p. 5502–5511, 2013.

GOYAL, R. et al. Bioactive base nanocarriers for the treatment of viral infections and SARS-CoV-2. **Nanomaterials**, v. 12, n. 9, p. 1530, 2022. doi: 10.3390/nano12091530.

GRUELL, H.; VANSHYLLA, K.; KORENKOV, M.; TOBER-LAU, P.; ZEHNER, M.; MÜNN, F.; JANICKI, H.; AUGUSTIN, M.; SCHOMMERS, P.; SANDER, L. E. SARS-CoV-2 Omicron sublineages exhibit distinct patterns of antibody escape. **Cell Host & Microbe**, v. 30, p. 1231–1241.e1236, 2022. doi:10.1016/j.chom.2022.07.002.

GUAN, W.J.; NI, Z.Y.; HU, Y.; LIANG, W.H.; OU, C. Q.; HE, J.X.; et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. **The New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 1708-1720, 2020. doi: 10.1016/j.jemermed.2020.04.004

HAAN, C. A. de; ROTTIER, P. J. Molecular interactions in coronavirus assembly. **Advances in Virus Research**, v. 64, p. 165–230, 2005.

HADFIELD, J.; MEGILL, C.; BELL, S.M.; HUDDLESTON, J.; POTTER, B.; CALLENDER, C.; SAGULENKO, P.; BEDFORD, T.; NEHER, R.A. Nextstrain: Real-time tracking of pathogen evolution. **Bioinformatics**, v. 34, n. 23, p. 4121–4123, 2018. doi: 10.1093/bioinformatics/bty407.

HELMY, Y. A. et al. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. **Journal of Clinical Medicine, Basel**, v. 9, n. 4, p. 1225, 2020. doi: 10.3390/JCM9041225.

HIRSCH, J.S.; NG, J.H.; ROSS, D. W.; et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. **Kidney International**, v. 98, n.1, p. 209-218, 2020. doi:10.1016/j.kint.2020.05.006

HOFFMANN, M. et al. Entry into SARS-CoV-2 cells depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **Cell**, v. 181, p. 271–280, 2020.

HOFFMANN, M.; KLEINE-WEBER, H.; PÖHLMANN, S. A multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells. **Mol. Cell**, v. 78, p. 779–784, 2020.

HOSSAIN, A.; TRISHNA, S. A.; RASHID, A. A.; KHAIR, S.; ALAM, A. R. U. Unique mutations in non-spike proteins of SARS-CoV-2 omicron subvariants: Potential impact on viral pathogenesis and host immune evasion. **Microbial Pathogenesis**, v. 170, p. 105699, 2022. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105699.

HUANG C.; et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

ICTV, International Committee on Taxonomy of viroses. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

INUI, S. et al. Chest CT scan findings in Diamond Princess cruise ship cases with coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Radiology: Cardiothoracic Imaging**, v. 2, n. 2, p. e200110, 2020.

JIN, Y.; YANG, H.; JI, W.; et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. **Viruses**. v. 12, n. 4, p. 372, 2020. doi:10.3390/v12040372

JUNG, C.; KMIEC, D.; KOEPKE, L.; ZECH, F.; JACOB, T.; SPARRER, K. M.; KIRCHHOFF, F. Omicron: What makes the latest variant of concern SARS-CoV-2 so worrisome? **Journal of Virology**, v. 96, n. 6, p. e02077-21. doi: 10.1128/jvi.02077-21.

KALYAANAMOORTHY, S.; MINH, B.Q.; WONG, T. K. F.; VON HAESLER, A.; JERMIIN, L.S. Model Finder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. **Nature Methods**, v. 14, n. 6, p. 587-589, 2017. doi:10.1038/nmeth.4285

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K.D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in Bioinformatics**, v. 20, n. 4, p. 1160-1166, 2019. doi: 10.1093/bib/bbx108

KAWASE, M. et al. Concurrent treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents the entry of coronaviruses into severe acute respiratory syndrome. **Journal of Virology**, v. 86, p. 6537–6545, 2012.

KLEIN, S. et al. Structure and replication of SARS-CoV-2 characterized by in situ cryo-electron tomography. **bioRxiv**, 2020.: doi:10.1101/2020.06.23.167064.

KOPSIDAS, I.; KARAGIANNIDOU, S.; KOSTAKI EG.; et al. Global Distribution, Dispersal Patterns, and Trend of Several Omicron Subvariants of SARS-CoV-2 across the Globe. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 11, p. 373, 2022.

doi:10.3390/tropicalmed7110373

LARSSON, A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. **Bioinformatics**, v. 30, n.22, p. 3276-3278, 2014. doi:10.1093/bioinformatics/btu531

LI, H. Minimap2: Pairwise alignment for nucleotide sequences. **Bioinformatics**, v. 34, p. 3094–3100, 2018. doi: [10.1093/bioinformatics/bty191](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191)

LI, Q.; et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. **Cell**, v.182, n. 5, p. 1284-1294, 2020. doi: 10.1016/j.cell.2020.07.012

LI, X.; ZAI, J.; ZHAO, Q.; et al. Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 6, p. 602-611, 2020. doi: 10.1002/jmv.25731

LIU, D. X.; LIANG, J. Q.; FUNG, T. S. Human Coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1 (Coronaviridae). **Encyclopedia of Virology**, [s. l.], p. 428-440, 2021. doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.21501-X

LIU, J.; LIAO, X.; QIAN, S.; YUAN, J.; WANG, F.; LIU, Y.; et al. Community Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, Shenzhen, China, 2020. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, p. 1320-3, 2020.

MATSUYAMA, S. et al. Efficient activation of severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by transmembrane protease TMPRSS2. **Journal of Virology**, v. 84, p. 12658–12664, 2010.

MEHTA, P.; MCAULEY, D.F.; BROWN, M.; et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. **Lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1033-1034, 2020. doi:10.1016/S0140-6736(20)30628-0

MEYEROWITZ, E. A. et al. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. **Annals of Internal Medicine**. v. 174, n. 1, p. 69-79, 2021. doi: 10.7326/M20-5008

MINH, B. Q.; SCHMIDT, H.A.; CHERNOMOR, O.; et al. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. **Molecular Biology and Evolution**, v. 37, n. 5, p. 1530-1534, 2020. doi:10.1093/molbev/msaa015

MOITINHO, M.S.; BELASCO, A.G.S.; BARBOSA, D.A.; FONSECA, C.D. Acute Kidney Injury by SARS-CoV-2 virus in patients with COVID-19: an integrative review. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 73, p. e20200354, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2020-0354>

MORI, Y.; NOTOMI, T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 15, p. 62–69, 2009. doi: 10.1007/s10156-009-0669-9.

NAL, B. et al. Differential maturation and subcellular localization of severe acute respiratory syndrome coronavirus surface proteins S, M and E. **The Journal of General Virology**, v. 86, n. 5, p. 1423-1434, 2005.

NERLI, R. B.; et al. Acute kidney injury in patients with COVID-19. **Indian Journal of Health Sciences and Biomedical Research (KLEU)**, v. 13, n. 2, p. 64, 2020. doi: 10.1016/j.kint.2020.05.006

NEUMAN, B. W. et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. **J Struct Biol.**, v. 174, n. 1, p. 11-22, 2011.

NIETO-TORRES, J. L.; DEDIEGO, M. L. et al. Subcellular location and topology of severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein. **Virology**, v. 415, n. 2, p. 69-82, 2011.

OMS, Organização Mundial da Saúde, Número de casos de COVID-19 notificados, 2024. Disponível em: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>

O'TOOLE, Á. et al. Designation and assignment of the Pango lineage using nucleotide sequences of the SARS-CoV-2 spike gene. **BMC Genomics**, v. 23, p. 121–121, 2022. doi: 10.1186/s12864-022-08358-2.

OR, X. et al. Characterization of SARS-CoV-2 spike glycoprotein at virus entry and its cross-immune reactivity with SARS-CoV. **Nature Communications**, v. 11, p. 1620, 2020.

PAN, Y.; ZHANG, D.; YANG, P.; POON, L. L. M.; WANG, Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 4, p. 411-2, 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4

PEIRIS, J.S.; LAI, S.T.; POON, L.L.; et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute

respiratory syndrome. **Lancet.**; v. 361, n. 9366, p.1319-1325, 2003. doi: 10.1016/s0140-6736(03)13077-2

PEREIRA, A.; TOMÉ DA CRUZ, K. A.; SOUSA LIMA, P. Principais aspectos do novo coronavírus SARS-COV-2: Uma ampla revisão. **Arquivos do Mudi**, v. 25, n. 1, p. 73-90, 2021. doi: 10.4025/arqmudi.v25i1.55455

PEREIRA, M. D.; et al. Aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos da COVID-19. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2020. doi: 10.12662/2317-3206jhbs.v8i1.3297.p1-8.2020

QUINTELLA, C. M.; et al. Vacinas para Coronavírus (COVID-19; SARSCOV-2): mapeamento preliminar de artigos, patentes, testes clínicos e mercado. **Cadernos de Prospecção**, v. 13, n. 1, p. 3, 2020. doi: [/10.9771/cp.v13i1.35871](https://doi.org/10.9771/cp.v13i1.35871)

RADERMECKER, C.; et al. Neutrophil extracellular traps infiltrate the lung airway, interstitial, and vascular compartments in severe COVID-19. **Journal of Experimental Medicine**, v. 217, n. 12, p. e20201012, 2020. doi: [/10.1084/jem.20201012](https://doi.org/10.1084/jem.20201012)

RAMBAUT, A.; HOLMES, E.C.; O'TOOLE, Á.; HILL, V.; MCCRONE, J.T.; RUIS, C.; DU PLESSIS, L.; PYBUS, O.G. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nature Microbiology*, v. 5, n. 11, p.1403–1407, 2020. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5

RONCO, C.; REIS, T. Kidney involvement in COVID-19 and rationale for extracorporeal therapies. **Nature Reviews Nephrology**, v.16, n. 6, p. 308-310. doi: 10.1038/s41581-020-0284-7.

SCALINCI, S. Z.; BATTAGLIOLA, E. T. Conjunctivitis can be the only presenting sign and symptom of COVID-19. **IDCases**, v. 20, e00774, 2020. doi: 10.1016/j.idcr.2020.e00774

SCHOCH, C. L. et al. Taxonomia NCBI: uma atualização abrangente sobre curadoria, recursos e ferramentas. **Banco de dados (Oxford)**, 2020. doi: 10.1093/database/baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.

SES – TO, Secretária Estadual de Saúde do Tocantins. Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde, 2023.

SHANG, J. et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, p. 11727–11734, 2020.

SHANG, J. et al. SARS-CoV-2 cellular entry mechanisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, p. 11727–11734, 2020.

SIMMONS, G. et al. Cathepsin L inhibitors prevent coronavirus entry into severe acute respiratory syndrome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, p. 11876–11881, 2005.

SIRACUSANO, G.; PASTORI, C.; LOPALCO, L. Humoral immune responses in COVID-19 patients: a window on the state of the art. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 1049, 2020. doi: 10.3389/fimmu.2020.01049

SKARBINSKI, J. et al. Risk of severe clinical outcomes among persons with SARS-CoV-2 infection with differing levels of vaccination during widespread Omicron (B.1.1.529) and Delta (B.1.617.2) variant circulation in Northern California: a retrospective cohort study. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 12, p. 100297, 2022.

SMILOWITZ, N. R. et al. C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19. **European Heart Journal**, v. 42, n. 23, p. 2270-2279, 2021.

SRIVASTAVA, S. et al. Current pathways for COVID-19 serology. **Annals of the National Academy of Medical Sciences (India)**, v. 56, p. 087–090, 2020. doi: 10.1055/s-0040-1713709.

STERTZ, S. et al. The intracellular sites of early replication and budding of SARS-coronavirus. **Virology**, v. 361, p. 304–315, 2007.

SUN, P.; LU, X.; XU, C.; SUN, W.; PAN, B. Understanding of COVID-19 based on current evidence. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 6, p. 548-551, 2020. doi: 10.1002/jmv.25722

TAG-VE, W. T. A. G. o. S.-C.-. V. E. W. Updated working definitions and primary actions for SARS-CoV-2 variants. 2023. [Acessado em: 13 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/16-03-2023-statement-on-theupdate-of-who-s-working-definitions-and-tracking-system-for-sars-cov-2-variantsof-concern-and-variants-of-interest>.

TAGDE, P. et al. Blockchain and artificial intelligence technology in e-Health. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 38, p. 52810–52831, 2021. doi: 10.1007/s11356-

021-16223-0.

TAN, C. et al. C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 7, p. 856-862, 2020.

TARKE, A. et al. Comprehensive analysis of T-cell immunodominance and immunoprevalence of SARS-CoV-2 epitopes in COVID-19 cases. **Cell Reports Medicine**, v. 2, p. 100204, 2021. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100204.

TEGALLY, H.; WILKINSON, E.; GIOVANETTI, M. et al. Detection of a variant of concern for SARS-CoV-2 in South Africa. **Nature**, v. 592, p. 438–443, 2021. doi:10.1038/s41586-021-03402-9

TOMBULOGLU, H. et al. Multiplex method of real-time RT-PCR for the diagnosis of SARS-CoV-2 using viral N, RdRP and human RP genes. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1, 2022. doi: 10.1038/s41598-022-06977-z.

TOOZE, J.; TOOZE, S.; WARREN, G. Replication of coronavirus MHV-A59 in sac-cells: Determination of the first site of budding of progeny virions. **European Journal of Cell Biology**, v. 33, n. 2, p. 281-293, 1984.

V'KOVSKI, P. et al. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, p. 155–170, 2021. doi: 10.1038/s41579-020-00468-6.

VENKATAGOPALAN, P. et al. Coronavirus envelope protein remains at the site of assembly. **Virology**, v. 478, p. 75-85, 2015.

WALLS, A. C.; PARK, Y. J.; TORTORICI, M. A.; WALL, A.; MCGUIRE, A. T.; & VEESLER, D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 281-292, 2020. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058

WANG, W.; XU, Y.; GAO, R.; LU, R.; HAN, K.; WU, G.; et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. **The Journal of the American Medical Association (JAMA)**, v. 323, n. 18, p. 1843-1844, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.3786

WEISBLUM, Y.; et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. **Elife**, v. 9, p. e61312, 2020. doi: 10.7554/eLife.61312

WHO, World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic.

<https://www.who.int/emergencies/disease/novel-coronavirus-2019>. Accessed September 27, 2023.

WHO, World Health Organization. Infection Prevention and Control of Epidemic-and Pandemic-prone Acute Respiratory Infections in Health Care. Geneva; 2014. Disponível em [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112656/9789241507134\\_eng.pdf;jsessionid=41AA684FB64571CE8D8A453C4F2B2096?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112656/9789241507134_eng.pdf;jsessionid=41AA684FB64571CE8D8A453C4F2B2096?sequence=1)).

WHO, World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>. Acesso em 27 de setembro de 2023.

WHO, World Health Organization. Statement on the update of WHO's working definitions and tracking system for SARS-CoV-2 variants of concern and variants of interest. 16 de março de 2023. (Disponível em <https://www.who.int/news/item/16-03-2023-statement-on-the-update-of-who-s-working-definitions-and-tracking-system-for-sars-cov-2-variants-of-concern-and-variants-of-interest>).

WHO, World Health Organization. Updated working definitions and primary actions for SARS-CoV-2 variants, 15 March 2023. 15 de março de 2023. (Disponível em <https://www.who.int/publications/m/item/updated-working-definitions-and-primary-actions-for--sars-cov-2-variants>).

WHO, World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. Disponível em: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>. Acesso em 27 de setembro de 2023.

WU, Y. et al. Incubation period of COVID-19 caused by unique SARS-CoV-2 strains: a systematic review and meta-analysis. **JAMA Netw Open**, v. 5, n. 8, e2228008, 2022. doi: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.28008>.

WU, Y.; GUO, C.; TANG, L.; HONG, Z.; ZHOU, J.; DONG, X.; et al. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. **The Lancet Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, n. 5, p. 434-5, 2020. doi: [10.1016/S2468-1253\(20\)30083-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30083-2)

YAMASOBA, D.; KIMURA, I.; NASSER, H.; et al. Virological characteristics of the SARS-

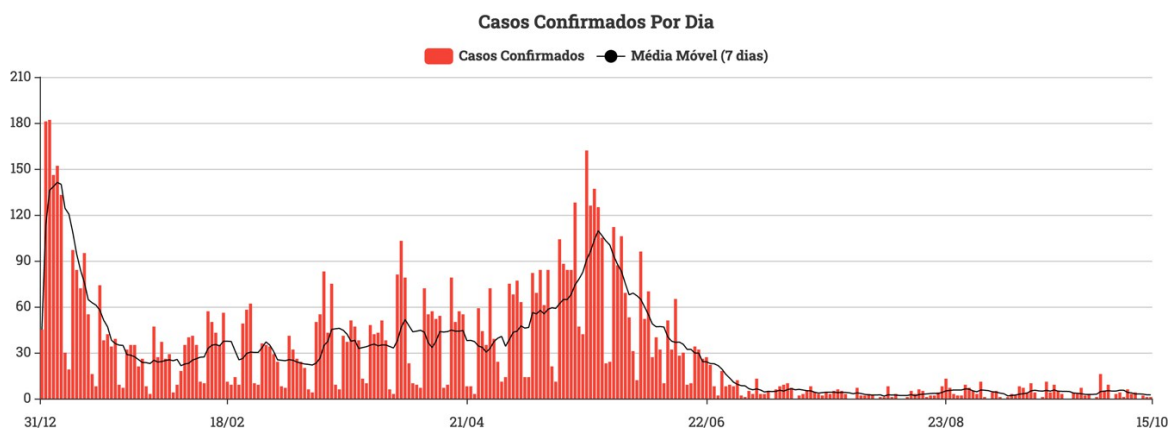
CoV-2 Omicron BA.2 peak. **Cell**, v. 185, p. 2103–2115, 2022. doi: 10.1016/j.cell.2022.04.035.

ZHANG, R. et al. CT features of SARS-CoV-2 pneumonia according to clinical presentation: a retrospective analysis of 120 consecutive patients from Wuhan City. **European Radiology**, v. 30, n. 8, p. 4417-4426, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32279115>.

ZHENG, S.; FAN, J.; YU, F.; FENG, B.; LOU, B.; ZOU, Q.; et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS- CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. **BMJ**, v. 369, p. m1443, 2020. doi: 10.1136/bmj.m1443

ZHOU, P.; YANG, X.L.; WANG, X.G.; et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270-273, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.

ZOU, X.; et al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. **Frontiers of medicine**, p. 1-8, 2020. doi: 10.1007/s11684-020-0754-0



**Gráfico:** Número casos confirmados de COVID-19 no estado do Tocantins entre Dezembro de 2022 e Outubro de 2023

**Fonte:** Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde / SES-TO.

## ANEXO B

### - DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título Público:** Corona-ômica BR MCTIC/FINEP: Rede Nacional de genomas, exoma e transcriptoma de COVID-19 para identificação de fatores associados à dispersão da epidemia e severidade  
**Pesquisador Responsável:** Fernando Rosado Spilki  
**Contato Público:** CYNTHIA CHESTER CARDOSO  
**Condições de saúde ou problemas estudados:**  
**Descritores CID - Gerais:**  
**Descritores CID - Específicos:**  
**Descritores CID - da Intervenção:**  
**Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP:** 06/08/2021



### + DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE

### - DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**Comitê de Ética Responsável:** 5348 - Universidade Feevale  
**Endereço:** RS 239, nº 2755  
**Telefone:** (51)3586-8800  
**E-mail:** cep@feevale.br

### - CENTRO(S) PARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

**Nome:** SOCIEDADE BENEF ISRAELITABRAS HOSPITAL ALBERT EINSTEIN  
**Cidade:** SÃO PAULO

**Nome:** Universidade Federal Do Rio de Janeiro  
**Cidade:** RIO DE JANEIRO

**Nome:** Faculdade de Medicina de São Jose do Rio Preto- FAMERP - SP  
**Cidade:** SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

**Nome:** Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - UNB  
**Cidade:** BRASÍLIA

**Nome:** Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA/MCT/PR  
**Cidade:** MANAUS

**Nome:** INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO  
**Cidade:** SÃO PAULO

**Nome:** Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto  
**Cidade:** RIBEIRÃO PRETO

**Nome:** FUNDACAO OSWALDO CRUZ  
**Cidade:** RIO DE JANEIRO

**Nome:** Instituto de Biologia - Unicamp  
**Cidade:** CAMPINAS

**Nome:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
**Cidade:** BELO HORIZONTE