

Ministério de Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

**CORRELAÇÃO ENTRE DESFECHOS CLÍNICOS DA COVID-19 E A
GENOTIPAGEM DO SARS-CoV-2 NO MUNICÍPIO DE BELO HORIZONTE
ENTRE JANEIRO E ABRIL DE 2021**

Por
André Luiz de Menezes

BELO HORIZONTE

2023

DISSERTAÇÃO MCS-IRR

A.L. MENEZES

2023

ANDRÉ LUIZ DE MENEZES

**CORRELAÇÃO ENTRE DESFECHOS CLÍNICOS DA COVID-19 E A
GENOTIPAGEM DO SARS-CoV-2 NO MUNICÍPIO DE BELO HORIZONTE ENTRE
JANEIRO E ABRIL DE 2021**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Saúde do Instituto René Rachou - Fiocruz Minas, área de Concentração: Biologia Celular e Molecular, Genética e Bioinformática, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

ORIENTADOR: CARLOS EDUARDO CALZAVARA SILVA

COORIENTADORES: RENATO SANTANA AGUIAR

ENEIDA SANTOS DE OLIVEIRA

BELO HORIZONTE

2023

M524c Menezes, André Luiz de.
2023

Correlação entre desfechos clínicos da COVID-19 e a genotipagem do SARS-COV-2 no município de Belo Horizonte entre janeiro e abril de 2021/ André Luiz de Menezes. - Belo Horizonte, 2023.

69 f. : il. color.

Orientador: Carlos Eduardo Calzavara Silva.

Coorientador: Renato Santana Aguiar; Eneida Santos de Oliveira

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências da Saúde), Belo Horizonte, 2023.

Bibliografia: f. 58 - 69.

1. SARS-CoV-2/ isolamento & purificação. 2. COVID-19. 3. Análise de Sequência de DNA. 4. Genotipagem/mortalidade. I. Título.

CDD 616.203

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Rede de Bibliotecas da Fiocruz com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Bibliotecário responsável pela elaboração da ficha catalográfica:
Nuzia Pereira dos Santos – CRB/6 3740 FIOCRUZ. Instituto René Rachou.
Biblioteca de Ciências da Saúde Prof. Zigman Brener

ANDRÉ LUIZ DE MENEZES

**CORRELAÇÃO ENTRE DESFECHOS CLÍNICOS DA COVID-19 E A
GENOTIPAGEM DO SARS-CoV-2 NO MUNICÍPIO DE BELO HORIZONTE ENTRE
JANEIRO E ABRIL DE 2021**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Saúde do Instituto René Rachou - Fiocruz Minas, área de Concentração: Biologia Celular e Molecular, Genética e Bioinformática, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Calzavara Silva (IRR/FIOCRUZ MINAS) - Presidente

Prof. Dr. Pedro Augusto Alves (IRR/FIOCRUZ MINAS) - Titular

Prof. Dr. Maurício Lacerda Nogueira (FAMERP) - Titular

Prof. Dr. Rubens Lima, do Monte Neto (IRR/FIOCRUZ MINAS) - Suplente

Dissertação defendida e aprovada em Belo Horizonte, 06/06/2023

Dedico esta dissertação aos familiares e amigos de todos aqueles que se foram em consequência da COVID-19.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus por todas as oportunidades de crescimento que tive e que venho tendo e sobretudo de tê-lo como guia e farol de toda minha caminhada.

A meus pais pelo apoio incondicional de todos os momentos, pela torcida, por toda confiança e sobretudo pelas raízes e asas que me deram, devo tudo a vocês.

Ao meu orientador que aceitou o desafio de apoiar um aluno pouco experiente na “bancada do laboratório”, mas com muita vontade de aprender e de produzir ciência. Esta dissertação nasceu da necessidade de compreender melhor um momento epidemiológico grave, pelo qual não só o nosso município, mas todo o mundo passava e o professor Carlos Eduardo Calzavara Silva, compreendendo o papel fundamental da ciência, não exitou no apoio irrestrito, durante todas as fases do projeto. A você professor, que acabou se tornando um grande amigo e a quem aprendo a admirar cada dia mais, o meu muito obrigado.

À Eneida Santos de Oliveira, minha coorientadora e motivo maior do mestrado ter saído do papel, agradeço muito pelo incentivo, por acreditar sempre em mim e por todas as lições básicas iniciais de biologia molecular. Você me inspira!

Ao meu coorientador Renato Santana Aguiar, pelo apoio fundamental e sem o qual eu não teria condições de ter seguido tudo que foi feito nesta dissertação. Fico com o desejo de ter apreendido ainda mais de biologia molecular com você, mas acredito mesmo que é esta vontade é que vai nos levando aos novos caminhos. Muito obrigado pelo seu apoio e de toda a equipe da UFMG, em especial ao Dr. Renan Pedra de Souza.

À toda equipe da FIOCRUZ MINAS – Instituto Rene Rachou, que apoiou neste mestrado e na sequencial vigilância genômica que estabelecemos no município de Belo Horizonte, em especial ao Dr. Pedro Augusto Alves e Dr. Rubens Lima do Monte Neto. Incluindo ainda toda a brilhante equipe do laboratório de Imunologia Celular e Molecular, que eu admiro demais e que muito me inspiraram e ajudaram nesta caminhada.

À gestão da Secretaria Municipal de Saúde, quando este projeto foi estabelecido e os dados coletados, destacando o Secretário Dr. Jackson Machado Pinto, a Subsecretária de Assistência à Saúde Taciana Malheiros, o Subsecretário de Vigilância Fabiano Pimenta e a Subsecretária

de Orçamento e Gestão, Fernanda Girão, que junto com a brilhante Coordenação de Apoio Diagnóstico, feita pela Geralda Eni Rufino, que junto comigo, não mediram esforços para a formatação do laboratório de biologia molecular do município que nos propiciou iniciar uma nova era de exames na SMSA, nos permitindo, inclusive, realizar vigilância genômica no município. Destaco ainda o apoio fundamental da equipe da Diretoria de Promoção à Saúde e Vigilância Epidemiológica, pelo apoio nos dados epidemiológicos e nas análises conjuntas de dados.

Ao professor e amigo Anderson Castro Soares de Oliveira pela ajuda e parceria importantíssima na análise estatística dos dados.

Ào Daniel pelo apoio e companherismo de todas as horas. Ao Bento, pela presença de todas as madrugadas de escrita e por fim, mas não menos importante, a todos os amigos e familiares que apoiaram, incentivaram e estiveram juntos em mais esta batalha e com quem divido esta conquista.

O que a vida quer da gente é coragem – João Guimarães Rosa

RESUMO

Introdução: A identificação do SARS-CoV-2 em dezembro de 2019 e a pandemia da COVID-19, que mudou todo o panorama de saúde mundial, impôs a necessidade da busca de ferramentas de diagnóstico para a doença, bem como instrumentos de vigilância epidemiológica e genômica no sentido de compreender a dinâmica da doença e buscar melhores propostas de controle e tratamento para doença. **Objetivos:** Analisar a prevalência dos genótipos de SARS CoV-2, no município de Belo Horizonte e correlacioná-los ao perfil clínico de gravidade da COVID-19 e seus desfechos de saúde no período de janeiro/2021 a abril de 2021, quando se observa a mudança dos padrões epidemiológicos da doença, associada às declarações mundiais de surgimento de novas variantes de preocupação. **Metodologia:** Trata-se de um estudo epidemiológico observacional analítico e retrospectivo que analisou 388 amostras positivas para SARS-CoV-2, processadas no Laboratório de Biologia Molecular próprio da Secretaria Municipal de Belo Horizonte, referentes a casos da COVID-19 diagnosticados que foram genotipadas e cujos resultados foram correlacionados com os dados clínicos, de internação e de mortalidade. **Resultados e conclusões:** A entrada da variante gama no município de Belo Horizonte ampliou significativamente o número de casos notificados de COVID-19, internações e óbitos pela doença, trazendo grande impacto social e assistencial, sendo que o presente estudo sugere que a presença da variante gama amplia o risco de internação em 4,39% a cada 10 anos a mais de idade e ainda mais para pacientes obesos, que teriam 7 vezes mais chances de internar, que aqueles apresentando outras variantes. Ao avaliar a mortalidade, a presença da variante gama ampliou 6,09% na mortalidade, a cada 10 anos vividos, sendo que os pacientes infectados com a variante gama e desenvolvimento de SRAG tiveram aproximadamente 9 vezes mais chance de morte e ainda os indivíduos do sexo masculino, infectados pela variante gama, apresentaram 1,7 vezes mais chance de morrer por COVID-19. **Discussões:** A vigilância genômica associada a epidemiologia, a fisiopatologia, a aspectos imunológicos e clínicos tem sido fundamental na luta contra a pandemia da COVID-19 e deve seguir num movimento síncrono mundial para que possamos evitar mortes e minimizar danos.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; COVID-19; Belo Horizonte; Vigilância genômica; variante gama; genotipagem.

ABSTRACT

Background: The identification of SARS-CoV-2 in December 2019 and the COVID-19 pandemic, which changed the entire world health landscape, imposed the need to search for diagnostic tools for the disease, as well as epidemiological and genomic surveillance instruments in the sense of understanding the dynamics of the disease and seeking better proposals for control and treatment for the disease. **Goals:** To analyze the prevalence of SARS CoV-2 genotypes in the city of Belo Horizonte and correlate them with the clinical profile of COVID-19 severity and its health outcomes from January 2020 to April 2021, when a change is observed on the epidemiological patterns of the disease, associated with worldwide declarations of the emergence of new variants of concern. **Methodology:** This is an analytical and retrospective observational epidemiological study that analyzed 388 samples positive for SARS-CoV-2, processed at the Molecular Biology Laboratory of the Municipal Secretariat of Belo Horizonte, referring to diagnosed cases of COVID-19 that were genotyped and whose results were correlated with clinical, hospitalization and mortality data of the cases. **Results and conclusions:** The detection of the gamma variant in the city of Belo Horizonte significantly increased the number of reported cases of COVID-19, hospitalizations and deaths from the disease, bringing great social and care impact, and the present study suggests that the presence of the gamma variant increases the risk of hospitalization by 4.39% every 10 years-old and even more for obese patients, who would be 7-fold more likely to be hospitalized than those with other variants. When assessing mortality, the presence of the gamma variant increased by 6.09% in mortality, every 10 years-old, with patients infected with the gamma variant and developing SARS having approximately 9-fold more chance of death and even individuals of the same sex males with the gamma variant were 1.7-fold more likely to die from COVID-19. **Discussions:** Genomic surveillance associated with epidemiology, pathophysiology, immunological and associated clinical aspects has been fundamental in the fight against the COVID-19 pandemic and must continue in a worldwide synchronous movement so that we can avoid deaths and minimize damage.

Key words: SARS-CoV-2; COVID-19; Belo Horizonte; Genomic surveillance; Gamma variant; genotyping.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TABELA		PÁGINA
Tabela 1	Flutuações temporais na taxa de mortalidade hospitalar atribuível à COVID-19 e mortes evitáveis atribuíveis à COVID-19 em hospitais Brizzi, Whittaker, Servo al. 2022.	37
Tabela 2	Lista de variáveis explicativas (perfil dos pacientes)	48
Tabela 3	Teste qui quadrado - Relação entre a internação, mortalidade e as variáveis explicativas de pacientes com variante gama e outras variantes do SARS-CoV-2	50
Tabela 4	Análise de colinearidade - Fator de inflação de variância média (VIF) para o modelo logístico para internação de pacientes com a variante gama	51
Tabela 5	Estimativas do modelo logístico para internação de pacientes com a variante gama	52
Tabela 6	Estimativas do modelo logístico para internação de pacientes com outras variantes do SARS-CoV-2	53
Tabela 7	Estimativas do modelo logístico para óbito de pacientes com a variante gama	53
Tabela 8	Estimativas do modelo logístico para óbito de pacientes com outras variantes do SARS-CoV-2	54

FIGURA		PÁGINA
Figura 1	Estrutura genômica dos conoronavírus. Fonte: adaptado de LI <i>et al</i> 2020 a	16
Figura 2	A organização genômica do SARS-CoV2. Fonte: Alanagreh <i>et al.</i> ,2020	17
Figura 3	Ciclo do SARS-CoV-2. HARRISON; LIN; WANG, 2020.	18
Figura 4	Resposta Inflamatória induzida pelo SARS-CoV-2. Harrison; Lin; Wang, 2020.	20
Figura 5	Variantes de interesse (fonte: PAHO, 2023)	22
Figura 6	Variantes de preocupação (fonte: PAHO, 2023)	23
Figura 7	Variantes SARS-CoV-2. Flores-Vega, V. R. <i>et al.</i> , 2022	27
Figura 8	Mapa de Belo Horizonte com divisão das 9 regionais de saúde do município.	33
Figura 9	Resumo gráfico da rede assistencial de saúde de Belo Horizonte. (Fonte: Secretaria Municipal de Saúde)	34
Figura 10	Estratégia de fluxo de trabalho para avaliação genômica das variantes do SARS-CoV-2 em Belo Horizonte.	41
Figura 11	Distribuição das amostras por tipificação do serviço de origem e por localização do paciente na rede assistencial.	44
Figura 12	Frequência das comorbidades relatadas	45
Figura 13	Frequência e percentuais dos elementos de gravidade	46
Figura 14	Etapas da regressão logística	49
Figura 15	Organogramas de risco de internação e óbito	52

GRÁFICO		PÁGINA
Gráfico 1	Notificações de COVID-19 segundo data de início dos sintomas e unidade de internação, residentes em Belo Horizonte, 2020-2021 (fonte: SIVEP GRIPE)	38
Gráfico 2	Número de internações e de óbitos confirmados para COVID-19, segundo data de ocorrência e de encerramento, residentes em Belo Horizonte, 2020-2021 (fonte: SIM e SA04R).	39
Gráfico 3	Genotipagem de amostras por semana epidemiológica (A- gráfico de barras. B gráfico de área).	47

LISTA DE ABREVIACOES

ACE2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
CDC	Centro de Controle de Doenças;
COVID-19	Coronavirus Disease 2019 – Doença do Coronavírus 2019
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
GISAID	Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data – Iniciativa Global de Compartilhamento de Dados da Gripe Aviária
IDT	Integrated DNA Technologies
M	Membrana;
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus;
MS	Ministério da Saúde;
N	Nucleocapsídeo;
NUPAD	Núcleo de Aes e Pesquisas em Apoio Diagnóstico;
OMS	Organização Mundial de Saúde;
ORF	Open Read Frame;
OviGen	Observatório de Vigilância Genômica;
PANGOLIN	Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak Lineages – Atribuição filogenética de linhagens de surto globais nomeadas
PBH	Prefeitura de Belo Horizonte
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RBD	Receptor Binding Domain – Domínio de ligação ao receptor
RBD	Region Binding Domain (Região do Domínio de Ligação);
Rdrp	RNA polimerase dependente de RNA;
RT-PCR	Transcrição Reversa - Reação em Cadeia da Polimerase
S	Spike;
S1	Subunidade 1 da Spike;
S2	Subunidade 2 da Spike;
SARS-CoV	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus;
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2;
SES-MG	Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais
SMSA BH	Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte
SNP	Single Nucleotide Polymorphism – Polimorfismo de Nucleotídeo nico
ssRNA	single strand RNA;
TMPRSS2	sigla para Protease Transmembranar Serina 2;
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais;
VOC	Variant of Concern – Variante de Preocupação
VOI	Variants of Interest – Variante de Interesse
VOI	Variant of Interest (Variante de Interesse);
WHO	World Health Organization – Organização Mundial de Saúde

Sumário

1- INTRODUÇÃO.....	13
1.1 - O coronavirus e a COVID-19.....	13
1.2 Patogênese do SARS-CoV-2 e a resposta imune.....	17
1.3 – Vigilância genômica	21
1.4 – A variante Gama	27
1.5 – Comorbidades e seu impacto nos desfechos da Covid-19	28
1.6 – O município de Belo Horizonte e o seu cenário epidemiológico no período do estudo	32
2 – OBJETIVOS.....	39
2.1 Objetivo geral	39
2.2 Objetivos específicos	40
3. METODOLOGIA.....	40
3.1 Tipo e período do estudo.....	40
3.2 Seleção de amostras e definição de critérios para genotipagem.....	40
3.3 Avaliação do genótipo viral	41
3.3.1 Síntese de cDNA e ensaio de genotipagem de rhAmp.....	41
3.3.2- Preparação da Biblioteca e Sequenciamento de Genoma	42
3.3.3 - Montagem do Genoma do SARS CoV-2 e Classificação da Linhagem.....	42
3.4 Critérios clínicos para a qualificação de amostras e dados epidemiológicos	43
4. RESULTADOS.....	43
4.1 Caracterização geral da amostra	43
4.2 - Modelo de regressão logística	47
6. CONCLUSÕES	57
7. REFERÊNCIAS	58

1- INTRODUÇÃO

1.1 - O coronavírus e a COVID-19

Em dezembro de 2019, a (Organização Mundial de Saúde) OMS recebeu a informação de casos de pneumonia na cidade Wuhan, província de Hubei na China (WHO, 2020), sendo que no dia 7 de janeiro de 2020, testes sorológicos identificaram um novo Betacoronavírus (WU *et al.*, 2020). Esse novo coronavírus causa a doença COVID-19 e se espalhou globalmente, provocando uma pandemia que, até a semana epidemiológica (SE) 12/2023, infectou cerca de 761 milhões de pessoas e causou 6.879 milhões de óbitos no mundo. No Brasil, cerca de 37.5 milhões de casos e 699 mil óbitos foram registrados neste mesmo período (WHO, 2023).

Os coronavírus (CoVs) são considerados os maiores vírus de RNA de fita positiva (26–32 kb) (Neuman; Adair; Yoshioka; Quispe *et al.*, 2006). Os CoVs pertencem à subfamília Coronavirinae, família Coronaviridae e apresentam um nucleocapsídeo (estrutura composta pelo ácido nucleico do vírus e seu invólucro proteico, o capsídeo) helicoidal (Alanagreh; Alzoughool; Atoum, 2020). Seu nome se deve à presença de espículas (estruturas proeminentes) presentes na superfície do nucleocapsídeo vírus, o que lhe dá a aparência de uma coroa solar (Malik, 2020). São vírus relacionados principalmente às infecções do trato respiratório e gastrointestinal, sendo taxonomicamente classificados em quatro gêneros: Alphacoronavírus, Betacoronavírus, Gammacoronavírus e Deltacoronavírus (Chan *et al.*, 2020 a). Até 2020, eram descritas sete diferentes espécies de CoVs causadores de infecção em humanos: HCOV-SARS, HCOV-OC43, HCOV-NL63, HCOV-MERS, HCOV-229e, HCOV-HKU1 e o então descoberto SARS-CoV-2 (Khailany; Safdar; Ozaslan, 2020.). O grupo pode também ser dividido em vírus endêmicos e epidêmicos de acordo com o registro de sua descoberta.

O primeiro registro de infecção de Coronavírus em humanos foi reportado na década de 1960, quando HCOV-OC43 e HCOV-229 e foram descritos como causadores de “resfriados” até então sem nenhuma complicação (Hamre; Procknow, 1966; McIntosh *et al.*, 1967).

O segundo registro endêmico de coronavírus que infectam humanos ocorreu em 2004-2005, quando foram descobertas as espécies HCOV-NL63 e HCOV-HKU1. Até esse ponto, os Coronavírus eram classificados como uma família de vírus endêmicos e associados a curtos resfriados, sendo equiparados ao vírus Influenza (Van Der Hoek *et al.*, 2004).

O primeiro caso de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) foi identificado em Foshan, na China, em novembro de 2002. Alguns meses depois, em julho de 2003, o vírus já tinha se espalhado em mais de 30 países, causando cerca de oito mil infecções e aproximadamente 800 mortes. Nove anos depois, uma nova espécie de Coronavírus foi identificada em uma amostra de pulmão de um paciente de 60 anos de idade, que morrera de

insuficiência respiratória na Arábia Saudita, sendo essa a primeira notificação do MERS (Middle East Respiratory Syndrome, HCoV-MERS) Coronavírus. Na epidemia de 2012, na Arábia Saudita, o HCoV-MERS causou mais de 2.500 casos com um total de 861 mortes, com taxa de mortalidade de 35% (Chafekar; Fielding, 2018; De Groot *et al.*, 2013; Perlman; Netland, 2009).

Em 16 de janeiro de 2020, 43 pacientes foram diagnosticados com o então 2019-nCoV, incluindo, entre estes, dois pacientes na Tailândia e no Japão. Logo após, em 23 de janeiro de 2020, 835 casos foram confirmados em mais de 32 províncias, municípios e regiões próximas a Wuhan, incluindo Hong Kong, Macau e Taiwan (WHO, 2020). Nessa mesma data, infecções em profissionais da saúde que tratavam pacientes foram reportadas e estudos relatam a transmissão direta humano-humano (Chan *et al.*, 2020b). No início do mês seguinte, em 11 de fevereiro de 2020, a Organização Mundial de Saúde nomeia a pneumonia induzida pelo novo coronavírus como Coronavirus Disease 2019 (Covid-19). Concomitantemente, a Comissão Internacional de Classificação Viral anuncia o novo nome para o vírus, antes nomeado de 2019-nCoV para Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). A partir desses eventos citados, o vírus se disseminou e propagou em todos os continentes.

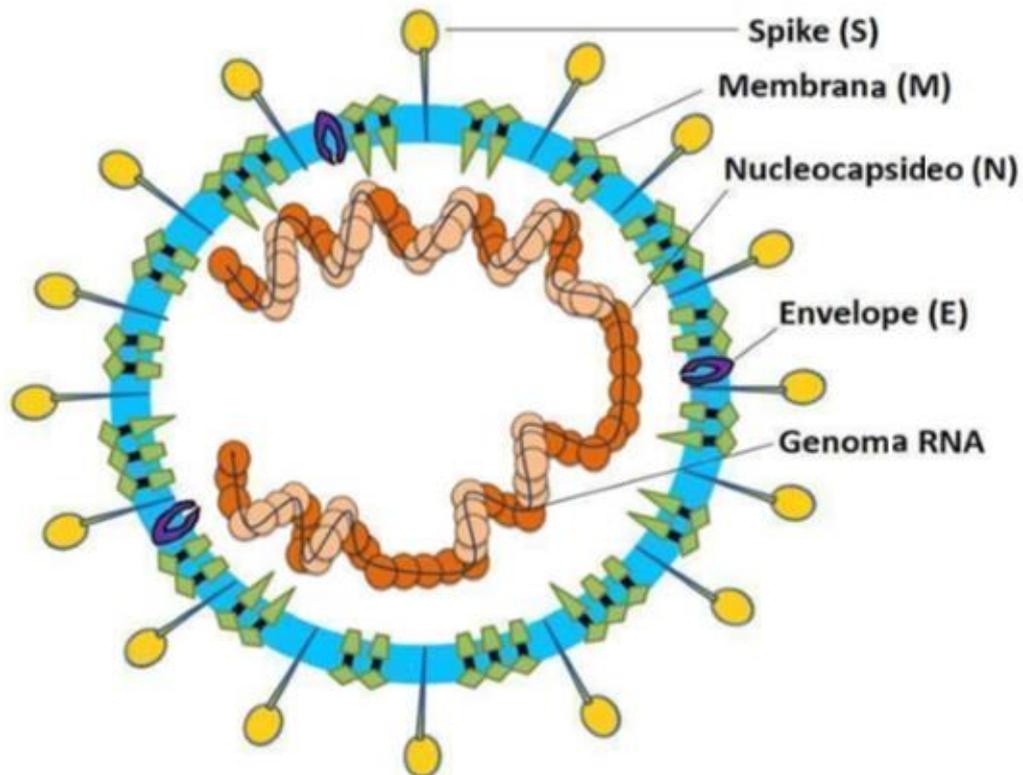
No dia 26 de fevereiro de 2020, o Ministério de Saúde do Brasil anunciou o primeiro caso confirmado de SARS-CoV-2 em solo nacional, identificado em um paciente de 61 anos, em São Paulo, no Hospital Albert Einstein. Desde o primeiro caso, o número de infectados no Brasil aumentou diariamente, contabilizando, em 19 de abril de 2023, 37.358.092 casos confirmados da doença. Com um total de 700.116 mil óbitos associados à doença, além disso o país já registrou uma das médias de morte diárias mais altas do mundo, com aproximadamente duas mil mortes (WHO, 2022). Os primeiros registros de sintomas de Coronavírus eram similares aos dos vírus Influenza em humanos, sendo, muitas vezes, associados à gripe (Fung; Liu, 2019). A partir da descoberta dos Coronavírus epidêmicos, em 2002 (SARS-CoV e HCoV-MERS), os sintomas descritos têm sido mais severos. Os principais sintomas da Covid-19, de acordo com a OMS, são: febre, tosse seca e cansaço. Os sintomas mais graves são: complicações respiratórias e pneumonia, podendo levar a óbito (WHO, 2022). Os sintomas mais severos representam maior risco em grupos mais suscetíveis, como pacientes imunodeprimidos, idosos e portadores de doenças crônicas, em que possa ocorrer o desenvolvimento de complicações respiratórias e em outros órgãos (Alanagreh; Alzoughool; Atoum, 2020). Cerca de 81% dos pacientes infectados desenvolvem os sintomas considerados principais, como uma leve pneumonia ou nenhuma. Porém de 5 a 14% desenvolvem sintomas mais críticos e graves, próximos à pneumonia e bronquite. Além disso, a quantidade de quadros

assintomáticos ou com sintomas clínicos leves, sobretudo nas fase inicial da pandemia, permitiu que a infecção se disseminasse de forma silenciosa, contagiando e expondo uma grande parcela da população (Li *et al.*, 2020) Diversos estudos buscaram a caracterização molecular do vírus assim que foi descoberto, e, a partir de abordagens de sequenciamento genômico, foi notada a alta similaridade genômica (79.6%) com SARS-CoV, sendo, portanto, nomeado, posteriormente, como SARS-CoV-2. Estudos apontam também, em análises de genômica comparativa, que SARS-CoV-2 de isolado humano tem uma identidade de 96% a uma sequência do coronavírus isolado de morcego. E a análise proteica, considerando o alinhamento de sete domínios de proteínas não estruturais, revelou que o vírus pertence à espécie SARS-CoV (Lu *et al.*, 2020 - Wu *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020).

O RNA dos coronavírus contém múltiplas ORFs (*open reading frames*). A maior ORF localizada na extremidade 5' ocupa cerca de $\frac{2}{3}$ do genoma, é composta por duas ORFs, que se sobrepõem denominadas ORF1a e ORF1b, responsáveis por codificarem sua poliproteína (Chen; Zhong, 2020). Outra principal ORF está localizada na extremidade 3' e codifica quatro proteínas estruturais, representadas na Figura 2 e sumarizadas a seguir:

- Spike (S), com cerca de 150 kDa, é responsável pela fase de adsorção do vírus no receptor celular, o que resulta na fusão e entrada viral (Chen; Zhong, 2020).
- Membrane (M), com cerca de 30 kDa, é a proteína mais abundante do vírus e que dá forma ao envelope viral (Chen; Zhong, 2020).
- Envelope (E), com cerca de 12 kDa, é a menor proteína estrutural do vírus durante a multiplicação e é encontrada em grande quantidade na célula infectada. Porém, apenas, parte dela é incorporada ao envelope viral, sua função principal é ajudar na montagem e liberação de novas partículas virais (Malik, 2020).
- Nucleocapsídeo (N), a única a conectar-se ao genoma viral, tem sua função associada à montagem e à liberação viral da célula infectada (Chen; Zhong, 2020).

FIGURA 1 - Estrutura da partícula viral dos conoronavírus.



FONTE: adaptado de LI *et al* (2020 a)

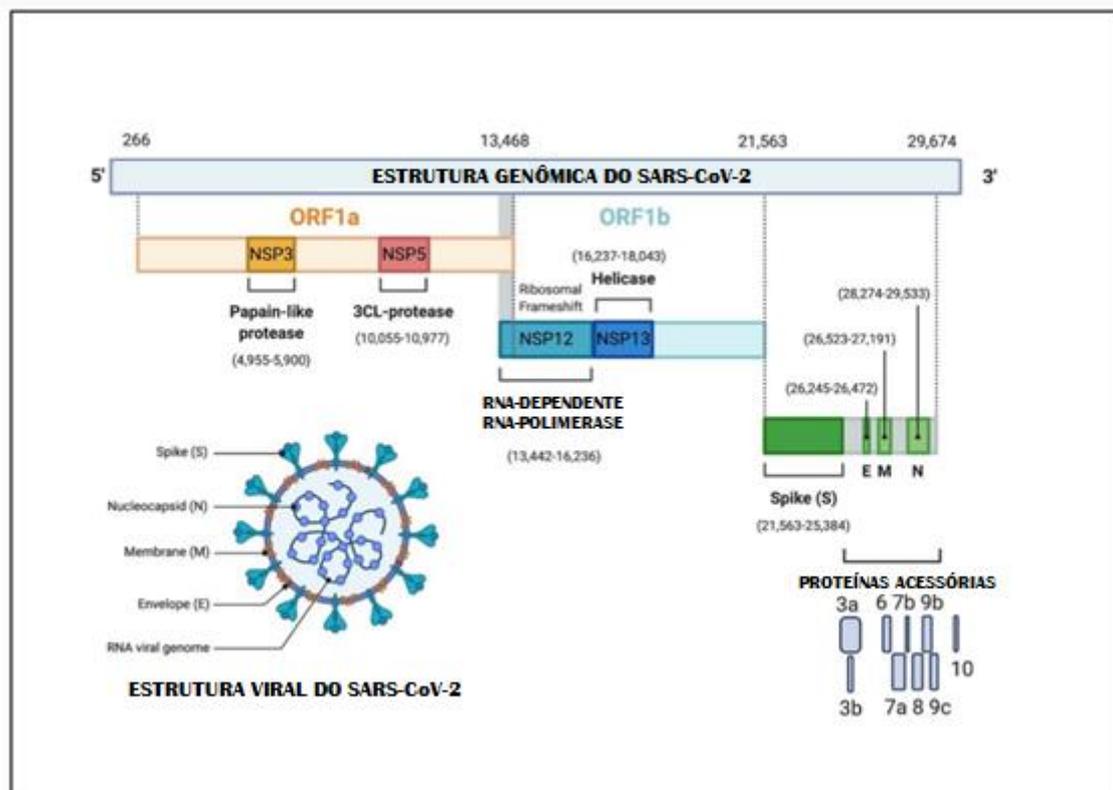
Além das proteínas estruturais que são codificadas pela ORF 3', estão presentes regiões codificadoras para proteínas acessórias como a proteína HE, a proteína 3a/b e a proteína 4a/b. Após a infecção viral e a fase de desnudamento, o RNA viral é traduzido em duas poliproteínas 1a e 1b, que, em seguida, são processadas em 16 proteínas não estruturais (NSPs), para a formação do complexo de replicação e tradução (RTC)(Chen *et al.*, 2020).

Análises transcricionais do genoma do vírus permitiram identificar 380 substituições de aminoácidos que podem ter contribuído para modificações funcionais e diferenças na patogenia observadas no SARS-CoV-2 (WU *et al.*, 2020). A partir de estudos genéticos comparativos também foi possível confirmar relações evolutivas com outras linhagens virais encontradas na natureza (Zhou *et al.*, 2020). Embora evidências indiquem que a taxa de casos fatais para SARS-CoV-2 seja inferior à observada em infecções por Influenza, essa taxa pode ser alterada à medida que novos estudos demonstrem a real proporção de casos. A taxa de mutação estimada para os Coronavírus é considerada entre moderada à alta para vírus (+)ssRNA (Alanagreh; Alzoughool; Atoum, 2020)

Nas análises iniciais de variantes, dois loci foram considerados sítios com maior

variação para SARS-CoV. O primeiro é identificado na sequência da proteína spike (S) e o segundo sítio de variação é localizado na ORF8. Na proteína S, há três pequenas inserções no domínio N-terminal, e quatro/cinco alterações nos resíduos do *motif* da proteína receptora (Zhou *et al.*, 2020). A organização de outras regiões do genoma e expressão de genes é bem próxima a outros Coronavírus, conforme Figura 2.

FIGURA 2 - A organização genômica do SARS-CoV2.



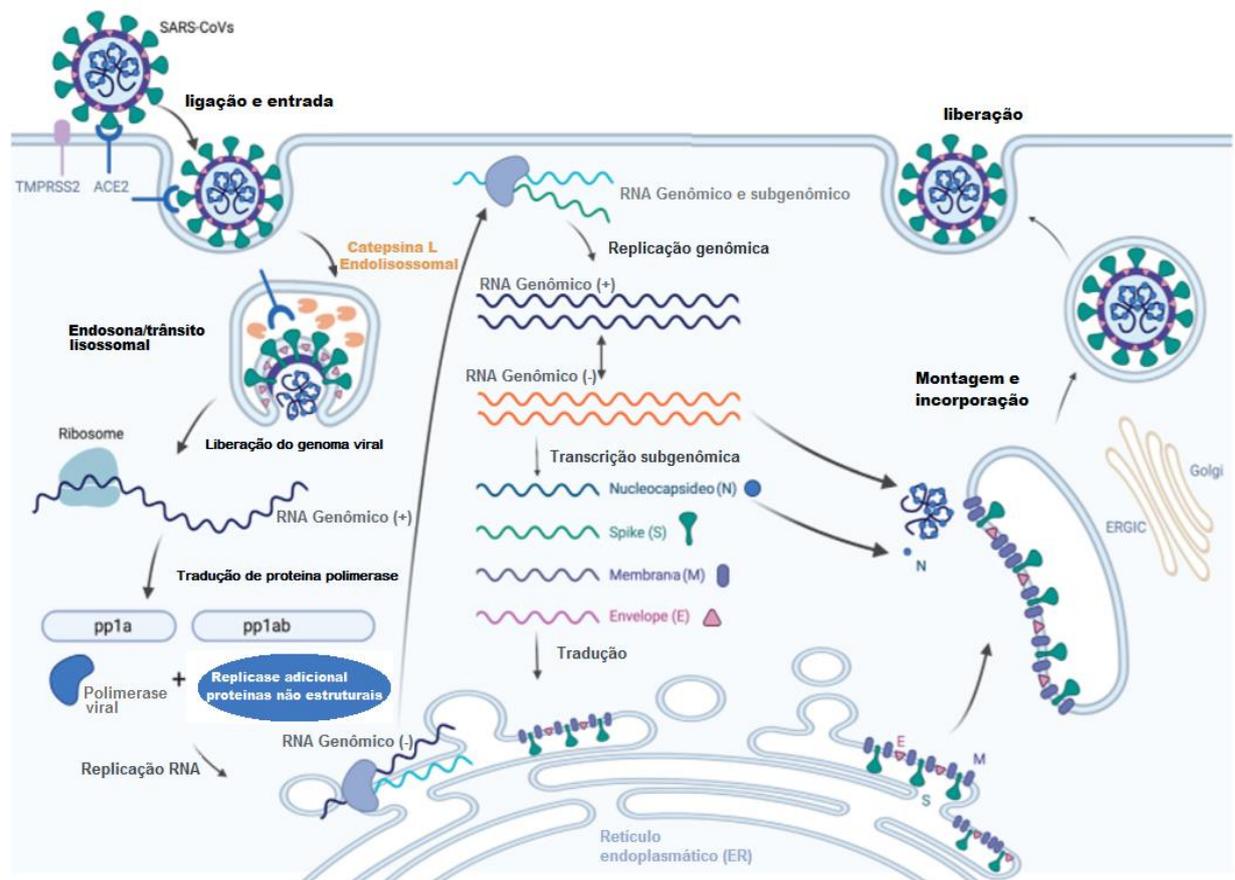
FONTE: Alanagreh *et al.*,(2020)

1.2 Patogênese do SARS-CoV-2 e a resposta imune

A proteína S, atua como ligante da enzima ACE2 (Enzima conversora de Angiotensina 2) e o receptor responsável pela ligação viral às células (Wrapp *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020 a). A Spike tem um domínio de ligação ao receptor (RBD) que media o contato direto com o ACE2 e um sítio de clivagem polibásico S1/S2 que é clivado proteoliticamente pela catepsina L e a protease transmembranar serina 2 (TMPRSS2) (Hoffmann *et al.*; Wu *et al.*, 2020b- Zhou *et al.*, 2020). A TMPRSS2 facilita a entrada do vírus na superfície da membrana plasmática, enquanto a Spike, ativa a catepsina L nos endossomos e podem compensar a entrada em células que não possuem TMPRSS2 (Hoffmann *et al.*, 2020). Uma vez que o genoma do vírus é liberado no

citossol do hospedeiro, ORF1a e ORF1b são traduzidos em replicase virais, que são clivadas em nsps individuais (via hospedeiro e proteases virais: PLpro); estes formam a RNA polimerase dependente de RNA (nsp12 derivada de ORF1b) (Perlman; Netland, 2009). Em seguida os componentes reorganizam no retículo endoplasmático (ER) em vesículas de membrana dupla (DMVs) que facilitam a replicação viral de RNAs genômicos e subgenômicos (sgRNA); estes últimos são traduzidos em proteínas estruturais acessórias virais que facilitam a formação de partículas virais (Snijder *et al.*, 2006; Wu; Brian, 2010).

FIGURA 3 - Ciclo do SARS-CoV-2.



O ciclo começa pela ligação da proteína Spike ao seu receptor, ACE2. A entrada eficiente na célula hospedeira depende então em: 1) clivagem do sítio S1/S2 pela TMPRSS2; e/ou 2) catipsina L endolisossomal. O genoma do vírus é liberado no citossol, onde é traduzido nas replicases (ORF1a/b). As poliproteínas (pp1a e pp1b) são clivadas por uma protease codificada por vírus em proteínas não estruturais do complexo de replicase individual (NSps) (incluindo a RNA polimerase dependente de RNA: RdRp). A replicação começa em vesículas de membrana dupla (DMVs) induzidas por vírus derivadas do retículo endoplasmático (ER). O genoma de fita positiva serve como um molde para RNA de fita negativa de comprimento total e RNA subgenômico (sg). A tradução de sgRNA resulta tanto em proteínas estruturais e acessórias (simplificadas aqui como N, S, M e E) que são inseridas no compartimento intermediário ER-Golgi para a montagem do vírion. Finalmente, genomas de RNA de sentido positivo subsequentes são incorporados em vírions recém-sintetizados, que são secretados pela membrana plasmática. **FONTE:** adaptada de Harrison; Lin; Wang, 2020.

O SARS-CoV-2 tem como alvo as células epiteliais nasais e brônquicas e pneumócitos, por meio da Spike que se liga ao ACE2 (Hoffmann *et al.*, 2020). Semelhante a outras doenças virais respiratórias, como a gripe, a linfopenia profunda pode ocorrer em indivíduos com COVID-19 quando o SARS-CoV-2 infecta e mata células de linfócitos T. Além disso, a resposta inflamatória viral, que consiste tanto na resposta imune inata quanto na adaptativa (compreendendo imunidade humoral e mediada por células), inibe a linfopoiese e aumenta a apoptose dos linfócitos. Embora a hiporregulação dos receptores ACE2 de medicamentos inibidores da ECA e bloqueadores do receptor da angiotensina aumentem a suscetibilidade à infecção por SARS-CoV-2, grandes coortes observacionais não encontraram associação entre esses medicamentos e o risco de infecção ou mortalidade hospitalar devido ao COVID-19. (FosbøL *et al.*, 2020).

Em estágios posteriores da infecção, quando a replicação viral se acelera, a integridade da barreira epitelial-endotelial fica comprometida. Além das células epiteliais, o SARS-CoV-2 infecta as células endoteliais dos capilares pulmonares, acentuando a resposta inflamatória e desencadeando um influxo de monócitos e neutrófilos.

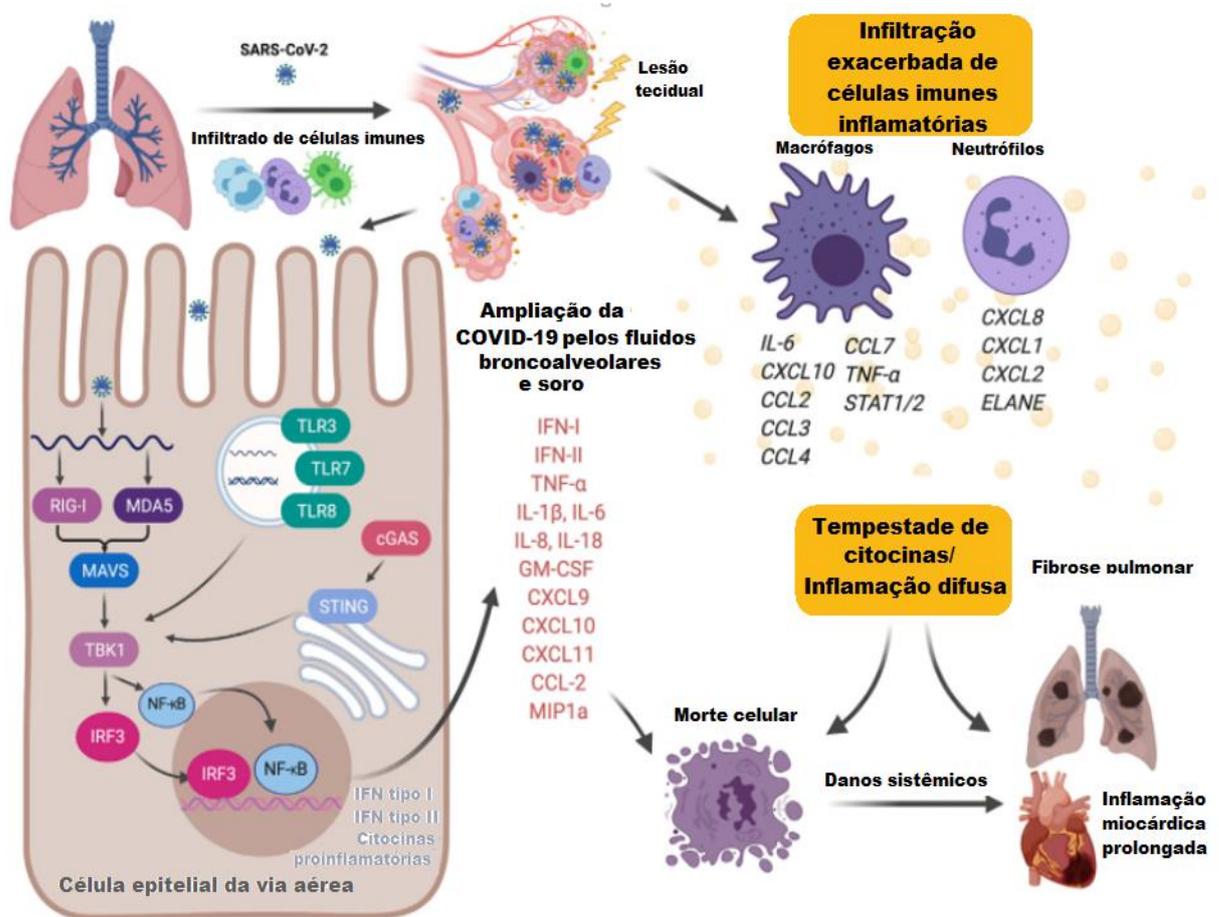
Infiltrados inflamatórios mononucleares intersticiais e edema se desenvolvem e aparecem como opacidades em vidro fosco na tomografia computadorizada (TC). Segue-se um edema pulmonar que preenche os espaços alveolares com formação de membrana hialina, compatível com a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) de fase inicial (XU *et al.*, 2020b). O 10 angioedema pulmonar dependente de bradicinina pode contribuir para a doença (Van de Weerdonk *et al.*, 2020). Coletivamente, ruptura da barreira endotelial, transmissão disfuncional de oxigênio alvéolo-capilar, e capacidade de difusão de oxigênio diminuída são características do COVID-19. Em COVID-19 grave, ocorre ativação fulminante da coagulação e consumo de fatores de coagulação (Tang *et al.*, 2020; Thachil *et al.*, 2020).

Um processo inflamatório, nas células endoteliais do tecido pulmonar pode resultar na formação de microtrombos e contribuir para a alta incidência de complicações trombóticas, como trombose venosa profunda, embolia pulmonar e complicações arteriais trombóticas (por exemplo, isquemia de membro, acidente vascular cerebral isquêmico, infarto do miocárdio) em pacientes criticamente enfermos (Klok *et al.*, 2020).

O SARS induz resposta imune (figura 4), através do recrutamento de linfócitos T e B levando, eventualmente, a produção de anticorpos específicos contra o patógeno (Newton; Cardani; Braciale, 2016). Durante esta fase de incubação e estágios leves, a imunidade adaptativa na maioria das pessoas é preparada para induzir uma resposta imune significativa contra a infecção por SARS-CoV-2 (Qin *et al.*, 2020; Tan *et al.*, 2020). Foi demonstrada a

infiltração de células TCD4+ e TCD8+ nos pulmões e fluido de lavagem broncoalveolar de camundongos BALB/C sensibilizados à infecção por SARS-COV-2, cuja via do IFN tipo I é essencial para a resposta eficiente dessas células T. De fato, o aumento da resistência à infecção por SARS-COV-2, a eliminação rápida dessa infecção e a redução da imunopatogênese e gravidade de COVID-19 dependem da resposta dessas células T específicas (Zhuang *et al.*, 2021)

FIGURA 4 - Resposta Inflamatória induzida pelo SARS-CoV-2



Após sua entrada no trato respiratório, o vírus atravessa profundamente o pulmão inferior, onde infecta uma variedade de células, incluindo células epiteliais das vias aéreas alveolares, células endoteliais vasculares e macrófagos. Após a entrada, é provável que o SARS-CoV-2 detectados por sensores imunes inatos citosólicos, TLRs que sinalizam a produção de interferons tipo I/III (IFNs) e outros mediadores pró-inflamatórios. O excesso de citocinas e quimiocinas inflamatórias no local, amplifica o dano tecidual via disfunção endotelial e vasodilatação, permitindo o recrutamento de células imunes, neste caso, macrófagos e neutrófilos. tanto o extravasamento vascular, quanto a função de barreira comprometida promovem endotelite e edema pulmonar, limitando as trocas gasosas que facilitam um ambiente hipóxico, levando à insuficiência respiratória/orgânica. O meio inflamatório induz células endoteliais para regular as moléculas de adesão leucocitária, promovendo assim o acúmulo de células imunes que também podem contribuir para a rápida progressão da doença. Parada respiratória. A hiperinflamação no pulmão induz ainda mais alterações transcripcionais em macrófagos e neutrófilos que perpetuam o dano tecidual que, em última análise, leva a danos pulmonares irreversíveis. Figura gerada com BioRender. **FONTE:** adaptada de Harrison; Lin; Wang, 2020.

Os mecanismos que iniciam os efeitos inflamatórios em resposta às infecções por SARS-CoV-2 estão principalmente associados à ativação da sinalização imune inata (Chan *et al.*, 2020). Foi demonstrado que a expressão de genes envolvidos na sinalização de interferon, degranulação de neutrófilos e resposta imune inata nos pulmões de macacos Rhesus aumenta após a infecção por SARS-CoV-2, enquanto as vias de indução da produção de colágeno são reguladas negativamente. O envelhecimento é um importante fator de risco para mau prognóstico e aumento da mortalidade na COVID-19. Foram demonstrados que os níveis de IFN tipo I aumentam significativamente nos pulmões de macacos infectados juvenis em comparação com macacos infectados idosos. Enquanto em macacos mais velhos com doença COVID-19, um aumento na contagem de neutrófilos e na razão neutrófilos/linfócitos foi observado (Rosa *et al.*, 2021).

1.3 – Vigilância genômica

A Vigilância Genômica tem por definição o objetivo de rastrear patógenos virais emergentes e reemergentes por meio do sequenciamento completo do seu material genético. Essa técnica se tornou fundamental na luta contra patógenos emergentes e reemergentes nos últimos anos, possibilitando o monitoramento de diferentes vírus zoonóticos e endêmicos (Magalhães *et al.*, 2020).

Durante a pandemia de Covid-19, a vigilância genômica alcançou proporções nunca atingidas, possibilitando o monitoramento da evolução desse patógeno e a identificação de milhares de variantes/linhagens ao longo do tempo (Flores-Vega .,2022).

A partir do final de 2020 iniciou-se grande preocupação internacional com o surgimento de novas variantes de SARS-CoV-2 circulantes pelo mundo. O surgimento de mutações, apesar de ser evento natural e esperado dentro do processo evolutivo viral, traz novas variantes do SARS-CoV-2, que geram apreensão entre pesquisadores e autoridades sanitárias pelas possibilidades de mudança no perfil de transmissão, virulência, mortalidade e perda de efetividade para os imunizantes contra a doença.

As VOIs, ou variantes de interesse (figura 5) são aquelas cujo genoma contiver mutações que mudem o fenótipo do vírus e se tiver sido identificada como causadora de transmissão comunitária, de múltiplos casos ou de clusters (agrupamentos de casos) de COVID-19, se tiver sido detectada em vários países; ou ser de outra forma avaliada como uma VOI pela OMS em consulta com o Grupo de Trabalho de Evolução do Vírus SARS-CoV-2 (PAHO).

FIGURA 5 - Variantes de interesse

CLASSIFICAÇÃO WHO	LINHAGEM - PANGO	CLADO/LINHAGEM - GISAID	CLADO - Neststrain	Primeira amostra documentada	Data da designação
EPSILON	B.1.427/B.1.429	GH/452R.V1	20C/S.452R	USA - MARÇO/2020	05/03/2021
ZETA	P.2	GR	20B/S.484K	BRASIL - ABR/2020	17/03/2021
ETA	B.1.525	G/484K.V3	20A/S484K	Multiplos países, dez-20	17/03/2021
THETA	P.3	GR	20B/S:265C	philippines - jan2020	24/03/2021
LOTA	B.A.526	GH/452R.V1	20C/S:484K	USA - NOV 2020	24/03/2021
KAPPA	B.1.617.1	G/452.V3	21A/S:154	Índia - outubro 2020	04/04/2021

FONTE: PAHO, 2023.

As VOCs são as variantes de preocupação (figura 6) que, comparativa às demais, demonstram estar associadas a uma ou mais das seguintes alterações em um grau de significância para a saúde pública global:

- Aumento da transmissibilidade ou alteração prejudicial na epidemiologia da COVID-19; ou
- Aumento da virulência ou mudança na apresentação clínica da doença; ou
- Diminuição da eficácia das medidas sociais e de saúde pública ou diagnósticos, vacinas e terapias disponíveis.

Estas linhagens (VOCs) são responsáveis pelo aumento da incidência de doenças e ondas de transmissão dentro dos diversos territórios. (WHO)

FIGURA 6 - Variantes de preocupação

CLASSIFICAÇÃO WHO	LINHAGEM - PANGO	CLADO/LINHAGEM - GISAID	CLADO - Neststrain	Primeria amostra documentada	Data da designação
Alfa	B.1.1.7	GRY (anteriormente GR/501Y.V1)	20I/S:501Y.V1	Reino Unido - Set/2020	18/12/2020
Beta	B.1.351	GH/501Y.V2	20h/S:501Y.V2	África do Sul - Maio/2020	18/12/2020
Gama	P.1	GR/501Y.V3	20J/S:501Y.V3	Brasil - Nov/2020	11/01/2021
Delta	B.1.617.2	G/452R.V3	21A/S:478K	Índia out/2020	VOI: 4/4/21 VOC: 11/05/21

FONTE: PAHO, 2023

O estabelecimento e a disseminação de tais variantes dependem de dois fatores principais: o que acontece dentro dos indivíduos nos quais as mutações surgiram e o que acontece depois quando o vírus é transmitido entre os indivíduos.

As mutações surgem à medida que os vírus se replicam dentro de um indivíduo infectado e, portanto, novas variantes enfrentam inicialmente forças seletivas naquele indivíduo. Para SARS-CoV-2, esses processos evolutivos dentro de cada indivíduo foram mais bem documentados em pacientes imunocomprometidos (Avanzato *et al.*, 2020; Choi *et al.*, 2020; Kemp *et al.*, 2021). Esses pacientes mantêm altas cargas virais por períodos prolongados, permitindo mais oportunidades de replicação, seleção viral e com consequentes taxas de substituição elevadas. Ao sequenciar o vírus em vários pontos numa linha temporal, estudos documentaram mudanças rápidas na composição da população viral em um paciente, ao longo de alguns dias. Essas mudanças são mais rápidas do que o esperado e apontam para a seleção natural, induzindo uma maior replicação viral, para que o vírus escape de um sistema imunológico enfraquecido ou mesmo de terapias com anticorpos recebidas por esses pacientes (Avanzato *et al.*, 2020; Choi *et al.*, 2020; Kemp *et al.*, 2021).

A maioria das mutações apresentam-se no gene que codifica Spike. Como já discutido anteriormente, essa é a proteína viral que se liga ao receptor ACE2 nas células do hospedeiro. Estudos demonstraram que pacientes que mantiveram altas cargas virais por tempo prolongado, apresentaram 57% das alterações na proteína Spike (Choi *et al.*, 2020). Já Kemp e colaboradores, encontraram 33% das mutações nesse gene (Kemp *et al.*, 2021). Esses dados são bem diferentes dos 13% esperados, baseado no comprimento desse gene em relação ao genoma completo do vírus. Muitas dessas mutações foram encontradas no domínio de ligação ao

receptor, que é essencial para a entrada do hospedeiro. Esta concentração na proteína Spike pode refletir, em parte, uma resistência diminuída da resposta imune desses indivíduos, uma vez que estão imunocomprometidos, entretanto, muitas dessas mutações são não-sinônimas, consistente com a seleção que favorece mudanças para a proteína Spike (Choi *et al.*, 2020). Além disso, várias mutações surgiram em paralelo em diferentes pacientes, sugerindo evolução convergente (McCormick; Jacobs; Mellors, 2021). McCarthy e colaboradores relatam, por exemplo, quatro casos independentes de pacientes com deleções no mesmo domínio amino-terminal de Spike, o que é importante para a entrada do hospedeiro e evasão de anticorpos (McCarthy *et al.*, 2021). Esses padrões não aleatórios de mudanças genômicas sugerem que as pressões seletivas, junto com a mutação, moldam fortemente a evolução viral em indivíduos imunocomprometidos. Pacientes imunocomprometidos devem ser protegidos de COVID-19 priorizando seus contatos para vacinação, e qualquer paciente com infecção prolongada deve ser tratado com muito cuidado como uma fonte potencial de novas variantes.

Taxas de mutação elevadas também podem ser causadas por alterações genéticas no SARS-CoV-2 que aumentam a taxa de erro durante a replicação viral (Takada *et al.*, 2020). Takada e colaboradores mostraram que a mutação P203L em NSP14 altera o domínio de revisão ExoN e quase duplica a taxa de mutação. Essas linhagens "mutadoras" também podem gerar variantes com combinações raras de novas mutações, mas até o momento, esses mutadores não aumentaram em frequência, possivelmente por causa do maior número de mutações deletérias resultantes (Takada *et al.*, 2020).

Outra fonte potencial de novas variantes em infecções individuais é a recombinação. Todos os vírus circulantes SARS-CoV-2 são semelhantes e intimamente relacionados pela descendência do vírus que infectou humanos pela primeira vez no final de 2019. Além disso, os artefatos gerados durante o sequenciamento e montagem genômica podem imitar a recombinação e podem explicar alguns dos eventos aparentes de recombinação (Ignatieva; Hein; Jenkins, 2021).

Uma análise realizada em 2021, fornece evidências de que genomas das amostras do Reino Unido podem ter surgido por recombinação durante um período em que B.1.1.7 e linhagens não variantes eram prevalentes (Jackson *et al.*, 2021).

A recombinação é uma preocupação porque gera novas combinações, potencialmente reunindo componentes de diferentes linhagens de forma a beneficiar o vírus. Para aquelas mutações SARS-CoV-2 que saem do indivíduo infectado e causam novas infecções, a probabilidade de que a variante se estabeleça depende de sua transmissibilidade na população, bem como da natureza e extensão dos contatos entre indivíduos, além de eventos fortuitos. Para

muitas doenças infecciosas, uma pequena fração de indivíduos tende a ser responsável por uma grande fração dos eventos de transmissão (Woolhouse *et al.*, 1997). É a 'regra 80/20', onde 80% das novas infecções são causadas por 20% de casos (Woolhouse *et al.*, 1997). Este padrão também foi observado para SARS-COV-2 (Althouse *et al.*, 2020; Endo *et al.*, 2020) e às vezes é referido como 'superdispersão', o que significa que a variação no número de novas infecções geradas por diferentes indivíduos é maior do que o esperado.

A superdispersão pode surgir por meio de vários processos, e os detalhes têm um forte efeito sobre a probabilidade de que uma nova variante se estabeleça dentro de uma população (por estabelecida, queremos dizer que a variante está presente em casos ativos suficientes ao ponto que que é muito improvável que seja perdida por acaso). Se a superdispersão surge porque os indivíduos variam em infectividade, com alguns casos transmitindo com muito menos frequência e outros com muito mais frequência do que o esperado (por exemplo, 'superespalhadores'), então essa variabilidade tende a diminuir a probabilidade de estabelecimento de uma variante (Lloyd-Smith *et al.*, 2005). Por outro lado, se a superdispersão ocorrer porque alguns indivíduos têm muito menos contatos ou níveis de atividade muito mais baixos e outros muito mais, isso tende a aumentar a probabilidade de estabelecimento.

A principal diferença entre os dois casos é que, quando a superdispersão se deve a eventos casuais que afetam o curso da infecção, não há relação entre a probabilidade de um indivíduo adquirir uma infecção variante e a propensão desse indivíduo de transmitir a outras pessoas. Como resultado, isso simplesmente introduz ruído adicional no sistema, diminuindo a probabilidade de estabelecimento. Em contraste, com a superdispersão devido à heterogeneidade de contato ou atividade, as variantes são mais propensas a infectar indivíduos altamente conectados e ativos que também têm uma maior propensão para transmitir em virtude de sua alta conectividade. Esse processo, pelo qual os indivíduos mais ativos contribuem desproporcionalmente para a transmissão, também explica por que direcionar vacinas e intervenções não farmacêuticas a trabalhadores essenciais é particularmente eficaz na redução de casos (Mulberry *et al.*, 2021)

Após a descoberta da variante gama em Manaus, (Faria *et al.*, 2021). A proporção de amostras de pacientes com COVID-19 em Manaus com cepas identificadas como P.1, que não circularam até novembro de 2020, aumentou para 52,2% em dezembro, e para 85,4% em janeiro de 2021 (Faria *et al.*, 2021a). Ao mesmo tempo, observou-se um aumento abrupto no número de internações pelo COVID-19 em Manaus, o que ocasionou o colapso do sistema de saúde local (Naveca *et al.*, 2021b; Sabino *et al.*, 2021). Estudos estimaram que a cepa P.1 pode ser 2,6 vezes mais transmissível que suas precursoras (Coutinho *et al.*, 2021), o que pode ajudar a

explicar o rápido agravamento da situação epidemiológica naquele local. Outro dado importante, é que essa variante representou cerca de 28% dos casos de reinfeção em Manaus (Coutinho *et al.*, 2021). Muitos eventos influenciaram no aumento dos casos em Manaus, seja pela alta virulência dessa variante, seja pelo abandono das medidas não farmacológicas, como distanciamento social e mesmo o uso de máscaras (Naveca *et al.*, 2021b).

Embora a taxa de mortalidade causada pelo SARS-CoV-2 possa estar sob seleção direta relativamente fraca, as mutações que afetam a taxa de transmissão ou outros atributos da doença podem ter efeitos correlatos na mortalidade. Variantes com taxa de transmissão moderadamente aumentada podem se espalhar prontamente durante uma pandemia, quer elas aumentem ou diminuam as taxas de mortalidade. Assim, a evolução da virulência depende fortemente da natureza das mutações. Por exemplo, se o aumento na transmissão for devido a uma carga viral mais alta, podem ocorrer doenças mais graves. Alternativamente, se as mutações causam sintomas mais brandos e assim aumentam os níveis de atividade dos indivíduos infectados, elas podem aumentar a transmissibilidade, mas reduzem a gravidade e as taxas de mortalidade.

A pandemia do Coronavírus 2019 (COVID-19) causou colapsos nos sistemas de saúde em todo o mundo, especialmente em locais onde não foram praticadas ou disponíveis medidas eficazes para controlar a disseminação viral (Brizzi, Whittaker, Servo *et al.*, 2022). Entre as numerosas linhagens da SARS-CoV-2 descritas, algumas chamaram a atenção das autoridades de saúde pública, dada sua associação com taxas mais altas de transmissão viral, gravidade da doença e resistência aos anticorpos neutralizantes desencadeados pelas vacinas profiláticas (Li., Lai., Gai, *et al.* 2021; Gidari, Sabbatini, Bastuabkku, *et al.*, 2021)

A VOC Alpha (B.1.1.7), foi a variante identificada no Reino Unido, em setembro de 2020. Após sua identificação, espalhou-se globalmente. Suas mutações foram relacionadas ao aumento da virulência e transmissibilidade (Meng *et al.*, 2021).

A variante Beta (B.1.315) foi identificada na África do Sul, em maio de 2020, e teve suas mutações associadas à neutralização de anticorpos monoclonais em humanos, levando a uma redução na eficácia da vacina em comparação aos resultados obtidos na variante Alpha (Dumache *et al.*, 2022, Faria, *et al.*, 2021).

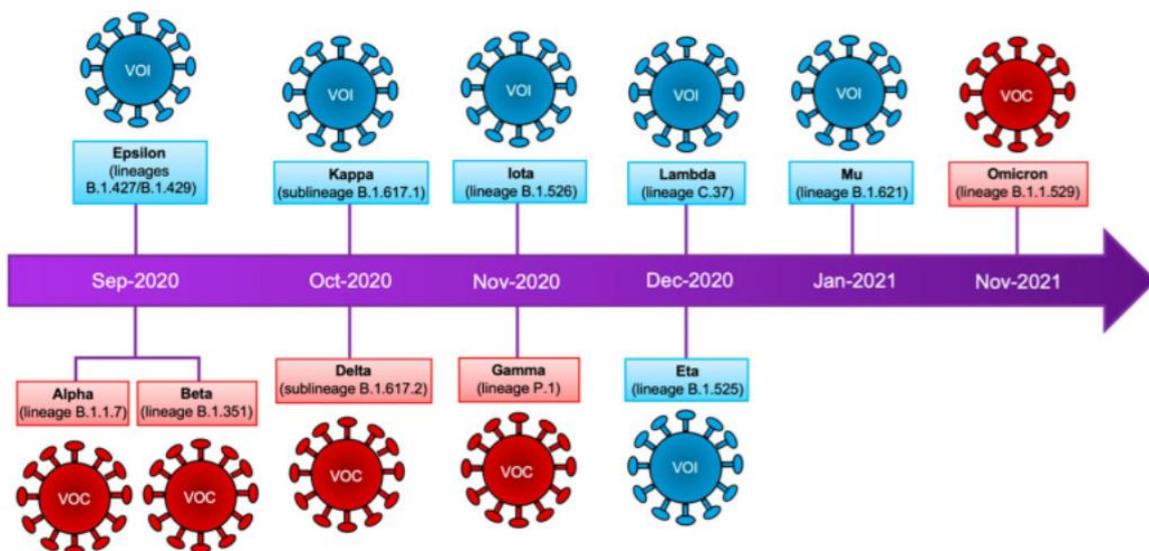
A Gama (P.1) é a VOC brasileira, identificada na cidade de Manaus, em novembro de 2020. Gama apresenta mais de 17 mutações não sinônimas, associadas à evasão imune, ao aumento da afinidade com o receptor ACE2 e ao aumento de transmissibilidade (Faria *et al.*, 2021). A Gama teve um grande impacto após sua introdução no Brasil, sendo a responsável pela segunda onda de infecções registradas, de fevereiro de 2021 a junho de 2021, período com o maior número de infectados e mortos registrados no país (Banho *et al.*, 2022). Dois meses

após sua primeira identificação, em janeiro de 2021, já se tinha tornado predominante entre os registros ao longo do país, com mais de 85% de dominância dos registros de SARS-CoV-2 (Dejnirattisai *et al.*, 2021). Esta variante tem especial atenção nesta dissertação pois o período deste estudo é marcado pela identificação da variante no território estudado e pelas possíveis mudanças epidemiológicas decorrentes desta nova entrada viral.

A variante Delta (B.1.617.2) foi identificada na Índia, em outubro de 2020, e suas mutações são concentradas, em maioria, na região spike, como resultado, Delta apresenta maior patogenicidade e transmissibilidade (Mittal; Khattri; Verma).

A variante Omicron (B.1.1.529) teve seu primeiro registro em Botsuana e na África do Sul, em novembro de 2021, e suas mutações estão associadas à maior transmissibilidade, afinidade com receptor hospedeiro e infectabilidade (Viana *et al.*, 2022).

FIGURA 7 - Variantes SARS-CoV-2.



Linha do tempo que resume a emergência da classificação das variantes do SARS-CoV-2 (considerando a data dos primeiros casos genotipados). Classificação de acordo com a Organização Mundial de Saúde é mostrada com os perfis de mutação. **FONTE:** adaptada de Flores-Vega, V. R. *et al.*, 2022.

1.4 – A variante Gama

Desde o início da pandemia da COVID-19 no Brasil, estudos de vigilância genômica mostraram a substituição das linhagens do SARS-CoV-2 ao longo do tempo (Claro, Silva Sales, Raimundo *et al.*, 2020; Volock, Da Silva, Francisco, De Almeida, *et al.*, 2021). A maioria dos

casos iniciais da COVID-19 foi causada pela introdução das linhagens B.1.1.28 e B.1.1.33, seguida pela variante Zeta (P.2) na região sudeste do Brasil em julho de 2020, concomitantemente com o declínio progressivo do número de casos.

No Brasil, a VOC do SARS-CoV-2 Gama (também conhecida como P.1, 20J/ 501Y.V3 ou GR/501Y.V3, VOC-21JAN-02 ou VOC202101/02) foi detectada pela primeira vez em dezembro de 2020 em Manaus, estado do Amazonas, no norte do Brasil. (Faria, NR *et al.*, 2021; Naveca, FG *et al.*, 2021; Fujino, T. *et al.* 2021). Sendo que em em 9 de janeiro de 2021, o Japão notificou à OMS sobre uma nova variante de SARS-CoV-2, inicialmente denominada P.1, detectada em quatro viajantes provenientes de Manaus.

A variante Gama é caracterizada por várias substituições de aminoácidos na proteína spike, incluindo L18F, N501Y, E484K e K417N, que foram associadas ao aumento da transmissibilidade e escape imunológico. Três semanas após sua detecção, Gama tornou-se a linhagem dominante circulando em Manaus medida pela frequência variante. A rápida disseminação do Gama pelo país foi seguida por ondas de mortalidade associadas ao COVID-19 e a gravidade medida pelas altas taxas de mortalidade intra-hospitalar. (Freitas *et al.*, 2021).

Até 2020, o país havia registrado cerca de 7,6 milhões de casos e 195.000 mortes (OPAS). Quatro meses depois, coincidindo com a entrada e circulação variante Gama no país, outra onda de infecções ocorreu, atingindo uma média móvel de 77.000 novos casos e 3000 mortes por dia (OPAS).

A progressão da doença causada pela variante gama foi observada em todos os estados do país. Em Minas Gerais (MG), o quarto maior estado em área e segundo mais populoso, houve um aumento de aproximadamente 240% na média móvel de casos e 470% das mortes de 01 de janeiro até o pico da doença em meados de abril de 2021 (OPAS). Em Belo Horizonte, a avaliação retrospectiva deste trabalho evidenciou que o primeiro caso identificado de infecção pela variante gama ocorreu em 08/01/2023, sendo que desta data até o pico diário de internações por COVID-19 em 15/03/2021, apenas 36 dias após, tivemos um crescimento de 300% no número de internações e neste mesmo período houve crescimento de 410% da mortalidade por COVID no Município.

1.5 – Comorbidades e seu impacto nos desfechos da Covid-19

O conhecimento dos fatores de risco que levam a desfechos graves como hospitalização, admissão em terapia intensiva (UTI) e óbito, causados pela COVID19, é de extrema importância. Ele auxilia nas tomadas de decisão no manejo clínico, principalmente quando há escassez iminente de recursos de saúde, como leitos de UTI; nas medidas preventivas

específicas com priorização de intervenções e triagem das pessoas em risco; e pode ser importante para o desenho e interpretação de ensaios clínicos sobre a eficácia de tratamentos. Estudos tem demonstrado que os principais fatores de risco incluem características demográficas e condições clínicas como comorbidades subjacentes (Dessie, Zewotir, 2021).

O perfil de pacientes com condições médicas preexistentes infectados pelo SARS-CoV-2 que necessitaram de hospitalização foi seis vezes maior do que pacientes sem comorbidades (Casella, M *et al.*, 2023). Diversas doenças estão relacionadas a maior risco de desfechos graves e óbito pela COVID-19, incluindo câncer, doença hepática crônica, HIV, doenças cardiovasculares, obesidade, tuberculose, condições de saúde mental, pneumopatias, diabetes mellitus, doença renal e condições neurológicas, além de outras condições gerais como gestação, uso de medicamentos imunossupressores, dentre outros.

Um considerável número de estudos (Leung, 2020; Zhou *et al.*, 2020; Kang, Jung, 2020; Verity *et al.*, 2020) constatou que a idade é um fator de risco bem estabelecido para desfechos graves de COVID-19. Segundo um relatório de um estudo realizado pelo Centro Chinês para Controle e Prevenção de Doenças, que contou com os dados de 44.672 pacientes com diagnóstico confirmado para SARSCOV-2, foi identificado que a taxa geral de letalidade (CFR) foi maior dentre os indivíduos com idade mais avançada.

O processo de envelhecimento envolve várias mudanças celulares e moleculares, incluindo a desregulação do sistema imunológico (Weiskopf; Weinberger; Grubeck-Loebenstein, 2009). Esse processo natural, quando associado a um quadro inflamatório, contribui fundamentalmente para o aumento da suscetibilidade e agravamento do COVID-19 em pessoas idosas (Chen *et al.*, 2021).

Dados obtidos por meio das principais autoridades em saúde da Alemanha, Itália e Reino Unido mostraram que homens são mais suscetíveis a desenvolver casos fatais de COVID-19 em comparação com mulheres, independentemente da idade que o indivíduo apresenta no momento que é infectado. Além disso, outras evidências comprovam que os indivíduos acima de 60 anos são mais vulneráveis e desses a maioria dos casos que evoluem para óbito são entre pacientes do sexo masculino (Cannistraci, Valsecchi, Capua, 2021).

De acordo Docherty *et al.*, (2020) de 16.749 pacientes hospitalizados com COVID-19 no Reino Unido, a minoria dos infectados eram mulheres (39,8%), enquanto os homens totalizavam 60,2% dos casos de hospitalização. No México foram observados resultados semelhantes. Ao analisar o perfil 185 pacientes mortos por COVID-19 em um hospital localizado na parte sul do país, observou-se que 60,1% das vítimas eram homens (Ruíz-Quiñonez *et al.*, 2021). O que confirma que há um padrão global no que se diz respeito a um

maior risco enfrentado pelos indivíduos do sexo masculino em relação a uma maior probabilidade de desfecho grave de infecção seria por COVID-19.

Outra comorbidade relevante no contexto de infecção por SARS-CoV-2 é a neoplasia. A literatura sugere que os pacientes com câncer diagnosticados com COVID-19 têm idade mais avançada que aqueles que não possuem tal comorbidade, além de possuírem risco cerca de 4,9 vezes maior de desfecho combinado de necessidade de terapia intensiva e/ou óbito. Tais eventos graves também parecem ocorrer mais precocemente [mediana de tempo para os eventos de 13 dias (IIQ 6-15) vs 43 dias (20-não atingido), $p < 0.0001$; HR 3,56; IC 95% 1,65-7,69) (Liang W., *et al.*, 2020).

As doenças cardiovasculares tiveram uma forte ligação com o SARS-COV e o MERS-COV (Badewi; Ryoo, 2016). De forma semelhante, observou-se uma prevalência de doença cardiovascular em pacientes com COVID-19, principalmente entre indivíduos que adquiriram a forma mais grave da doença. Um estudo realizado no Brasil investigou que dos 17.752 casos de óbitos notificados, 14.737 pessoas relataram uma ou mais comorbidades, sendo que 35% dos não sobreviventes tinha doenças cardíacas crônicas (Pachiega *et al.*, 2020)

Outro estudo, prospectivo de coorte, no qual participaram pacientes hospitalizados no Hospital Pulmonar de Wuhan, na China, identificou a cardiopatia como um fator de risco grave. O estudo identificou que 57,1% dos óbitos dos pacientes hospitalizados por COVID-19 tiveram a cardiopatia como condição agravante (Du *et al.*, 2020).

Uma meta-análise, que reuniu um total de seis estudos com 1527 pacientes, identificou que a comorbidade que mais prevaleceu foi a hipertensão, representando 17,1% dos casos (LI *et al.*, 2020). Outro estudo, multicêntrico transversal, observacional e retrospectivo realizado na Espanha analisou 12.226 pacientes com resultado positivo para COVID-19. Desses indivíduos, 2.630 pessoas tiveram o desfecho para óbito, e a comorbidade mais comum foi a hipertensão arterial, representando 50,9% dos casos. O estudo concluiu que hipertensão arterial está associada a um maior risco de mortalidade, independente de outras comorbidades como sexo e idade (Rodilla *et al.*, 2020). Resultados similares foram encontrados em uma revisão sistemática com meta-análise, que envolveu 14 estudos da China e de Nova York, documentando desfechos de 4.659 pacientes. Entre as comorbidades, a mais recorrente entre os pacientes que morreram foi a hipertensão arterial com 56,8% dos casos registrados (Tian *et al.*, 2020).

A diabetes está associada a casos graves de complicações renais e cardiovasculares (Zhou *et al.*, 2016). Uma meta-análise de 2020 com base nos dados de 2.108 pacientes da China infectados com COVID-19 constatou que a prevalência de diabetes foi de 10,3% (Fadini *et al.*,

2020) estudo retrospectivo realizado em Nova York analisou 5.700 pacientes hospitalizados com COVID-19 e concluiu que dentre estes, 33,8% eram acometidos pela diabetes (Richardson *et al.*, 2020). Na Turquia, um estudo investigou 18.429 pacientes internados e comparou pacientes com diabetes e sem diabetes. Tal estudo chegou à conclusão de que o índice de mortalidade dentre os pacientes com diabetes foi maior em comparação com os sem diabetes (13,6% vs 8,7%; razão de risco 1,75; IC 95%, 1,58 -1,93; $p < .001$), o que demonstra que os indivíduos acometidos pela diabetes possuem maior propensão a evoluir para internação hospitalar, internação na UTI e óbito (Sonmez *et al.*, 2021).

Outra razão pela qual a diabetes é um fator de risco grave para pessoas infectadas pela SARS-COV 2 esteja relacionada as altas doses de furina encontradas nos organismos dos indivíduos com diabetes (Fernandez *et al.*, 2018). Os altos níveis de furina ativam a proteína spike (S) do SARS-CoV-2 ligada aos receptores ECA, o que permite a entrada do vírus nas células humanas. Isso pode levar a uma maior taxa de inflamação pulmonar e níveis mais baixos de insulina, o que eleva o risco dos pacientes (Shang *et al.*, 2020). Por fim, a função prejudicada das células T e os níveis elevados de interleucina6 (IL-6) também contribuem para o desenvolvimento da COVID-19 nesses pacientes (Kulcsar *et al.*, 2019).

A obesidade é um sério problema a nível mundial, sendo considerada pela OMS uma epidemia do século XXI (WHO, 1997). Atualmente, a maioria dos países apresenta uma margem de 20% de sua população sendo acometida pela obesidade, e esse número tem constantemente aumentado (Popkin *et al.*, 2020). Essa realidade não é diferente no Brasil. De acordo com dados da PNS (Pesquisa Nacional de Saúde), realizada pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), em 2019 a obesidade atingiu 26,8% da população brasileira. Em 2003, por exemplo, esse percentual foi de 12,2 (PNS, 2019). A COVID-19 tem a obesidade como um de seus principais fatores de risco, sendo a obesidade fator de risco também para outras infecções virais (Malavos *et al.*, 2020). Na pandemia de H1N1 de 2009, a obesidade foi identificada como fator de risco independente de doença grave, internação e morte (Maier *et al.*, 2018; Fezeu, L. *et al.* 2011.). O estudo Fresán *et al.*, (2021) que analisou 433.995 pacientes infectados com COVID-19 observou que os pacientes com obesidade apresentaram risco aumentado de hospitalização (risco relativo ajustado [aRR]: 2,20) e gravidade (aRR: 2,30). Gao *et al.*, (2020) verificou que indivíduos com obesidade apresentaram maior gravidade e tempo de internação ao serem infectados com COVID-19 (OR ajustado: 3,00 para obesidade, OR ajustado: 1,13 para IMC). Além disso, o IMC acima de 40 kg/m² foi avaliado como fator de risco independente associado à mortalidade, mais comum em pacientes com menos de 50 anos (Klang *et al.*, 2020).

Uma possível causa para a obesidade ser um fator de risco grave para a COVID-19 é que a obesidade, especialmente a obesidade central, causa a expansão do tecido adiposo visceral (Rutkowski; Stern; Scherer, 2015; Földi *et al.*, 2021). Essa expansão causa disfunção metabólica, estresse do retículo endoplasmático, infiltração de células imunes, polarização de macrófagos para um fenótipo pró-inflamatório, morte de células adipócitos e inflamação. Tudo isso, associado à expressão alterada de adipocinas e citocinas causa efeitos sistêmicos, tal como a disfunção de órgãos endócrinos e metabólicos (Sudhakar *et al.*, 2022). Há também uma possível explicação genética para o motivo pelo qual a obesidade causa um agravamento nos casos de COVID-19. A explicação vem de um estudo que analisou, através de autópsias, os pulmões de 14 pacientes com obesidade, diabetes ou hipertensão falecidos, cujo óbito teve como causa a COVID19. O estudo observou que, especificamente os pulmões dos indivíduos com obesidade, apresentaram alterações de genes que provavelmente explicavam os óbitos dessa população (Santos e Silva *et al.*, 2021).

1.6 – O município de Belo Horizonte e o seu cenário epidemiológico no período do estudo

O município de Belo Horizonte possui 2.521.564 habitantes, de acordo com a previsão do IBGE para 2020 e é a 1º maior cidade do estado em população, sendo a expectativa de vida ao nascer de 76,3 anos e o IDH é de 0,81(4)

FIGURA 8 – Mapa de Belo Horizonte com divisão das 9 regionais de saúde do município.

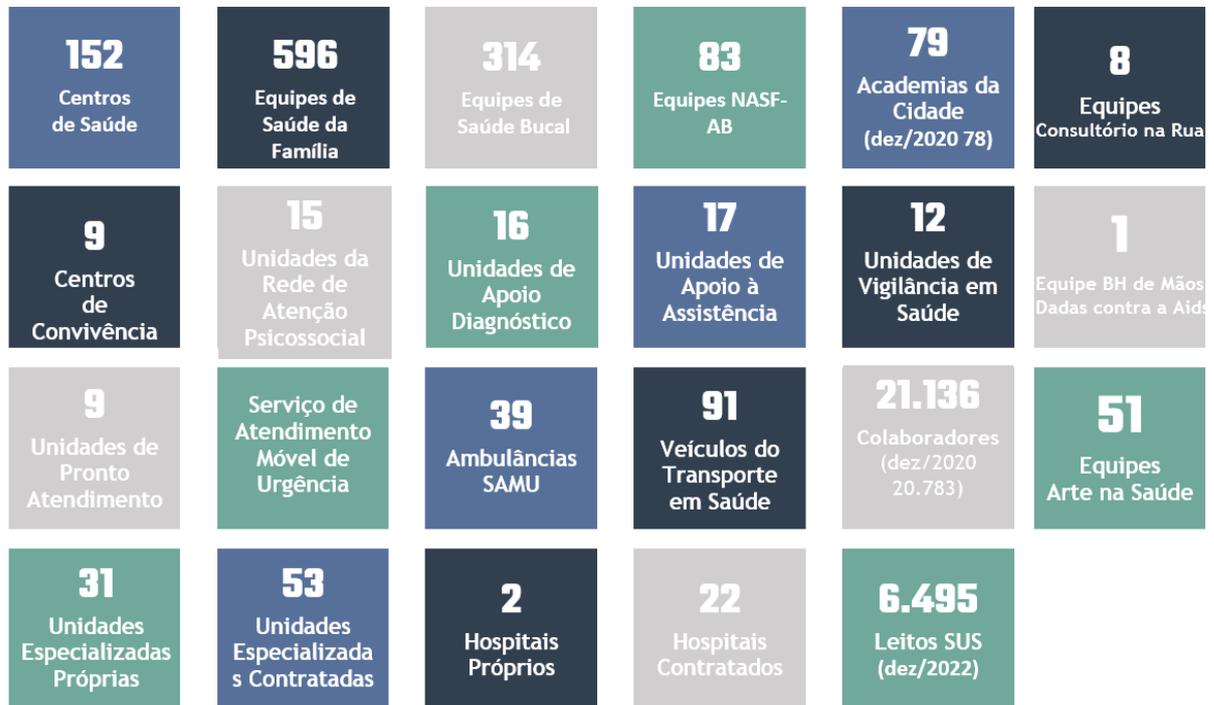


FONTE: Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte

O Sistema de saúde pública do município, conta com 81% de cobertura do Programa de Saúde da Família para a população, contando, entre os seus diversos serviços de saúde, com 152 unidades básicas, 9 unidades de pronto atendimento em cada uma das suas regionais de saúde e no período de emergência da COVID-19 foram abertos 3 CECOVIDs (Centros de Especializados em COVID-19), todos estes três perfis de unidades foram criados no período mais crítico da pandemia para garantir acesso facilitado e priorizado para o atendimento do paciente com sintomas da COVID-19.

FIGURA 9 – Resumo gráfico da rede assistencial de saúde de Belo Horizonte.

REDE DE SAÚDE SUS BH – PANORAMA GERAL



FONTE: Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte

A fim de aprimorar a resposta ao combate a pandemia da COVID-19 a Secretaria Municipal da Saúde de Belo Horizonte, com o apoio técnico da FIOCRUZ Minas/Instituto Rene Rachou e a parceria da Fundação Ezequiel Dias (FUNED) estruturou e iniciou o funcionamento do seu laboratório de biologia molecular próprio, em junho/2020, capaz de realizar o diagnóstico molecular da COVID-19, para todas as amostras coletadas nos serviços de saúde públicos municipais, sendo que à partir da evolução da pandemia e do cenário epidemiológico, com o aumento no número de casos e mortes, associados à necessidade de acompanhar a dinâmica e interferência do surgimento de novas variantes neste contexto, houve a necessidade de organizar um processo de vigilância genômica no município com intuito de monitorar o perfil de variantes circulantes à partir de dezembro de 2020. Neste contexto e buscando celeridade de resposta e custos viáveis buscamos uma metodologia de genotipagem de variantes do SARS-CoV-2 que fossem mais rápidas e baratas que a genotipagem das amostras do município em parceria com a FIOCRUZ Minas/Instituto René Rachou e com a Universidade Federal de Minas Gerais.

Na retaguarda hospitalar, o município conta com 2 hospitais próprios e 22 hospitais

contratualizados (filantrópicos, estaduais, federais e particulares), com um total atual de 6495 leitos SUS, que foram ampliados significativamente desde o início da pandemia até o período deste estudo, para garantir a adequada assistência à população, sendo que o Hospital Municipal Doutor Célio de Castro, um dos hospitais próprios, com 460 leitos, foi convertido ao atendimento 100% COVID-19,

Belo Horizonte teve o seu primeiro caso confirmado de infecção pelo SARS CoV-2 em 16/03/2020, sendo o primeiro registro de morte pela doença em 30/03/2023. Até 31/12/2020, 39 semanas após, o município de Belo Horizonte registrava 1877 casos de morte confirmados para COVID, destacando-se que em 31/12/2020 a taxa de ocupação de leitos de de CTI para COVID-19 era de 66,1%. À partir da entrada da variante Gama no município, na 1ª semana epidemiológica do ano, conforme será detalhado posteriormente, até o a semana epidemiológica 11/2021, quando ocorre o pico de casos e de mortalidade da doença no município, observou-se mortalidade acumulada de 2.902 (54,6% de ampliação da mortalidade em 9 semanas), sendo que a taxa de ocupação de leitos de CTI COVID-19 subiu para 98%, segundo os dados dos boletins epidemiológicos do município, evidenciando a significativa piora do panorama epidemiológico da doença num curto prazo de tempo.

O início da vacinação no Brasil coincidiu com a entrada e expansão da variante Gama, bem como, com as mudanças na estrutura populacional infectada pela COVID-19, por idade do Brasil ao longo de todo o primeiro semestre de 2021 (Castro *et al.* 2021). O início da imunização para COVID-19 no município se deu em 19 de janeiro de 2021 quando Belo Horizonte recebeu 128.388 mil doses da vacina. O primeiro grupo vacinado na capital foi o de profissionais de saúde que atuavam nos hospitais da rede pública, filantrópica e privada, além dos trabalhadores das nove Unidades de Pronto-Atendimento e do Serviço de Atendimento Móvel de Urgência (SAMU), seguida pelo início da população idosa, sendo que até o final do período deste estudo, 31/04/2021, o município estava iniciando a vacinação da 2ª dose da vacina na população de 68 anos.

Além do impacto da vacinação, devemos ainda levar em consideração os recursos disponíveis para a assistência à saúde. Desde a fase inicial da pandemia de COVID-19, os investimentos para evitar um colapso generalizado do sistema único de saúde do Brasil resultaram em maior disponibilidade de equipamentos como ventiladores e leitos de unidade de terapia intensiva (UTI), bem como profissionais de saúde treinados, mas com considerável diferenças geográficas (Albuquerque, Ribeiro, 2021; Rocha *et al.* , 2021). No contexto mais amplo de subfinanciamento do sistema único de saúde do Brasil antes da pandemia (Castro *et al* 2019) e disparidades nos recursos de saúde entre e dentro dos estados dentro dos Estados e

Municípios.

Estudo conduzido por Brizzi, Whittaker, Servo *et al.* 2022 que desenvolveu um modelo bayesiano de fatalidade multi-estirpe para separar os efeitos de desigualdades específicas de localização, pressões de saúde pandêmicas e gravidade da doença causada pela variante Gama nas taxas flutuantes de fatalidade intrahospitalar por COVID-19, ao mesmo tempo em que contabilizou a perda acumulada substancial de vidas e distribuição de vacinas com prioridade para a idade em 14 capitais brasileiras, propôs que o aumento acentuado nas taxas de mortalidade intra-hospitalar por COVID-19 é melhor explicado por mudanças nas pressões dos cuidados de saúde do que por um efeito direto do Gama nas taxas de mortalidade em pacientes hospitalizados, sendo que em relação a Belo Horizonte, as taxas de mortalidade mais baixas foram estimadas 1,95 vezes (intervalo de credibilidade de 95% (CrI): 1,11–3,25) mais altas em todas as outras capitais, um efeito de localização consistente em todas as faixas etárias. Este trabalho, evidencia que nos momentos de pico, as pressões pandêmicas de saúde medidas pelos índices propostos foram associadas a um efeito multiplicativo de 2,33 vezes (95% CrI: 1,39–4,27) nas 14 cidades, e essa contribuição foi mais forte em locais que já tiveram altas taxas de mortalidade intra-hospitalar no início do estudo. Utilizando ainda simulações contrafactuais adicionais, avaliaram quantas mortes hospitalares poderiam ter sido evitadas na ausência de desigualdades regionais e limitações de recursos pandêmicos e as menores taxas de mortalidade hospitalar observadas foram encontradas em Belo Horizonte, 18%. O estudo sugere que as mortes intra-hospitalares no Brasil, baseado nos dados positivos de Belo Horizonte, considerando os modelos utilizados no estudo, poderiam ter sido reduzidas em cerca de 57,1% (95% CrI: 54,3–59,9%) nas 14 capitais (Tabela 1).

TABELA 1 - Flutuações temporais na taxa de mortalidade hospitalar atribuível à COVID-19 e mortes evitáveis atribuíveis à COVID-19 em hospitais.

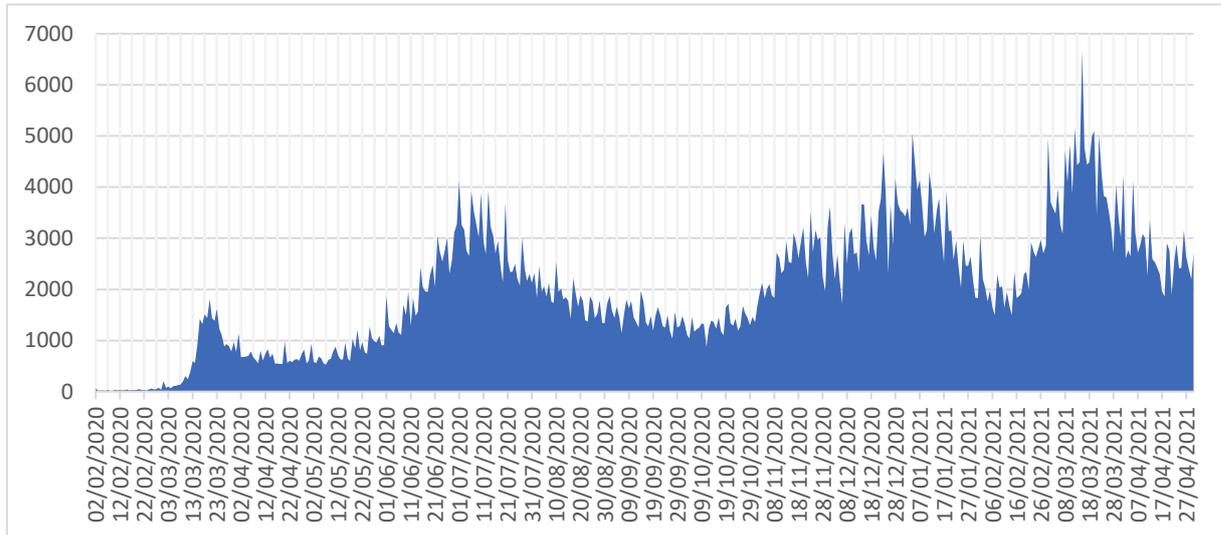
Flutuações temporais na taxa de mortalidade hospitalar atribuível à COVID-19 e mortes evitáveis atribuíveis à COVID-19 em hospitais								
Localização	período de observação	COVID-19 atribuível		Taxa de fatalidade intra-hospitalar (HFR) semanal padronizada por idade por COVID-19			Estimativas de mortes evitáveis por COVID-19 em hospitais	
		Total	Mortes	Mais baixo (%) ^b	Altíssima (%) ^b	aumento de dobra	Assumindo o menor HFR em cada cidade (%)	Assumindo o mais baixo HFR em todas as 14 cidades (%)
Belo Horizonte	06/04/20–26/07/21	42.113	7.692	7.7	12.7	1,64	29,1 (24,6–33,7)	29,1 (24,6–33,7)
curitiba	02/03/20–26/07/21	33.015	7.535	8.1	18.1	2.23	39,6 (34,2–44,7)	47,3 (43,9–50,8)
Florianópolis	09/03/20–26/07/21	4.032	893	7.8	17.1	2.20	22,9 (12,5–32,6)	44,5 (40,9–48,1)
Goiânia	16/03/20–26/07/21	20.044	6.246	11.6	25.9	2.23	44,7 (39,0–50,0)	61,2 (58,6–63,7)
João Pessoa	09/03/20–26/07/21	10.552	3.636	15.3	29,7	1,94	18,8 (13,0–25,1)	65,9 (63,7–68,1)
Macapá	30/03/20–26/07/21	3.169	1.011	11,0	41,5	3,78	41,6 (30,5–51,8)	68,4 (66,2–70,6)
Manaus	24/02/20–26/07/21	26.260	10.168	16.4	33.4	2.04	39,3 (35,9–42,3)	70,9 (69–72,9)
Natal	16/03/20–26/07/21	9.344	3.512	11.4	32.9	2.87	35,4 (30,2–40,5)	66,9 (64,8–69)
Porto Alegre	02/03/20–26/07/21	16.106	5.266	8.6	27.1	3.16	41,8 (37,7–45,7)	59,6 (57,1–62,3)
porto velho	30/03/20–26/07/21	6.795	2.473	11.5	32.2	2.79	39,1 (32,2–45,5)	70,3 (68,3–72,4)
Rio de Janeiro	16/03/20–26/07/21	73.139	28.053	19.2	26,0	1.35	10,2 (8,5–11,9)	66,9 (64,8–69)
salvador	16/03/20–26/07/21	26.964	8.509	9.7	26.9	2.76	20,8 (16,2–25,2)	61,3 (58,8–63,9)
são luis	24/02/20–26/07/21	8.545	2.547	8.2	26,5	3.25	35,7 (28,4–42,4)	60,5 (57,9–63,1)
São Paulo	20/01/20–26/07/21	182.288	42.769	8.8	19.8	2.24	36,2 (33,9%–38,4)	50,1 (46,9–53,4)
Todas as 14 cidades	20/01/20–26/07/21	462.366	130.317				29,8 (28,7–30,9)	57,1 (54,3–59,9)

As taxas de mortalidade mais baixas foram calculadas no período anterior à primeira detecção de Gamma em cada local, e as taxas de mortalidade mais altas foram calculadas incluindo o tempo após a primeira detecção de Gamma. As taxas de letalidade mais baixas no período anterior à primeira detecção do Gama concordaram com as observadas em todo o período do estudo para todas as cidades, exceto Belo Horizonte. **FONTE:** adaptado de Brizzi, Whittaker, Servo *et al.* 2022

Certamente, não é simples generalizar os efeitos dos índices de pressão de saúde para outros países e em diferentes ondas temporais da pandemia e devemos considerar ainda o bem estudado conceito de resiliência do sistema de saúde (Haldane V. *et al.* 2021). No entanto, os resultados destacam que índices estabelecidos, como o Global Health Security Index (Baum, F. *et al.* 2021) são inadequados para medir com segurança a resiliência dos cuidados de saúde. Resultados semelhantes ao que apresentamos no trabalho do Imperial College foram encontrados na Grécia, em Israel e nos Estados Unidos (Lytras, Tsiodras, 2021; Kadri *et al.* 2021; Rossman *et al.* 2021).

Em relação à dinâmica de novos casos, desde o início de casos na cidade até o final do período deste estudo 31/04/2021, pôde-se observar 2 picos (“ondas”) de notificações de casos de COVID-19 e de casos de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) notificados, cujo topo do número de casos coincidem com as semanas epidemiológicas 28/2020 (“primeira onda”) e 11/2021 (“segunda onda”). Este segundo momento da doença no município, se estende por cerca de todo o primeiro quadrimestre de 2021 e se caracteriza a por 2 momentos de queda não sustentada do número de casos (gráfico 1).

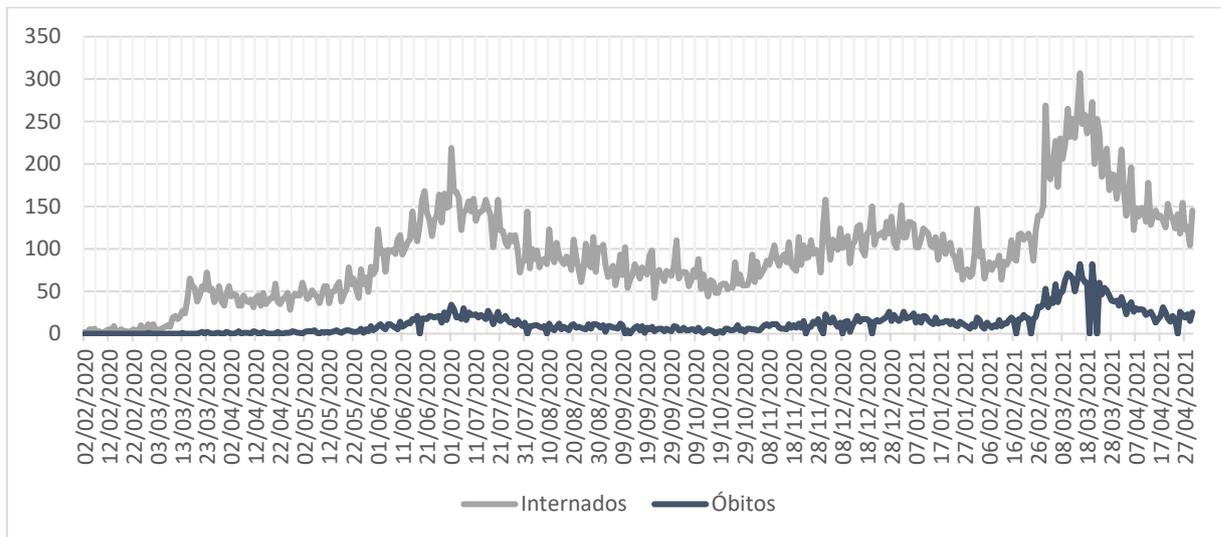
GRÁFICO 1: Notificações de COVID-19 segundo data de início dos sintomas e unidade de internação, residentes em Belo Horizonte, 2020-2021



FONTE: SIVEP GRIPE

Cada uma das 2 “ondas” tem características específicas, sendo que há um grande destaque para a gravidade dos casos e o crescimento de casos de SRAG, no primeiro quadrimestre 2021, caracterizada pela extrema sobrecarga da rede de saúde municipal (pública e privada), evidenciada pelo esgotamento de leitos de CTI, que atingiu 100% das taxas de ocupação no mês de março/2021, a despeito da ampliação significativa do número de leitos (SMSA/BH, novembro 2021) que ocorreu ao longo daquele mês, destacando-se ainda o maior período de mortalidade no município, trazendo o questionamento de qual poderia ser o motivo da mudança de perfil epidemiológico desta 2ª onda (gráfico 2).

GRÁFICO 2 – Número de internações e de óbitos confirmados para COVID-19, segundo data de ocorrência e de encerramento, residentes em Belo Horizonte, 2020-2021.



FONTE: SIM e SA04R.

O perfil epidemiológico observado no município teve consonância ainda com a grande maioria das cidades brasileiras e de forma síncrona com os dados epidemiológicos mundiais, desde o mês de dezembro/2020, quando já se identificavam novas variantes virais do SARS CoV-2, notadamente a variante gama, circulando de forma global e com indícios de mutações que poderiam ser potencialmente mais transmissíveis e graves e que poderiam explicar tal mudança de padrão.

Desta forma, compreendendo a abrupta mudança do cenário epidemiológico da pandemia da COVID-19 no município de Belo Horizonte, a necessidade de estabelecer a etiologia desta mudança e ainda a entrada de uma nova variante do SARS-CoV-2 seria capaz de explicá-la, buscamos correlacionar a nova variante gama à ampliação de casos notificados e óbitos. Para verificar tal hipótese realizamos ensaios de diagnóstico molecular do SARS-CoV-2 e genotipagem das amostras positivas, correlacionando tais dados aos desfechos de internação e morte com os indivíduos infectados pela nova variante gama a fim buscar tal resposta. Metodologia, resultados, discussão e conclusões serão apresentados e detalhados a seguir.

2 – OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a correlação entre o surgimento e entrada de novas variantes do SARS CoV-2 no município de Belo Horizonte, de janeiro a abril de 2021 e o aumento significativo do número

de casos e da gravidade da doença no município.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 - Analisar a prevalência dos genótipos de SARS CoV-2 dentro da coorte estudada, entre janeiro e abril/2021, no município de Belo Horizonte.

2.2.2 - Analisar o perfil clínico de gravidade da COVID-19 e os desfechos de saúde, entre janeiro e abril/2021, dentro da coorte estudada.

2.2.3 – Correlacionar genótipos encontrados com os perfis de desfechos de saúde.

3. METODOLOGIA

3.1 Tipo e período do estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico observacional analítico e retrospectivo que analisou 388 amostras positivas para SARS-CoV-2, processadas no Laboratório de Biologia Molecular próprio da Secretaria Municipal de Belo Horizonte, no período de 4 de janeiro (semana epidemiológica 1) a 27 de abril de 2021 (semana epidemiológica 17), referentes a casos de COVID-19 diagnosticados no município e relatados no Sistema Nacional de Informação sobre Vigilância Epidemiológica da Gripe (SIVEP-Gripe) do Ministério da Saúde do Brasil e que foram genotipadas para definição de genótipo viral.

3.2 Seleção de amostras e definição de critérios para genotipagem

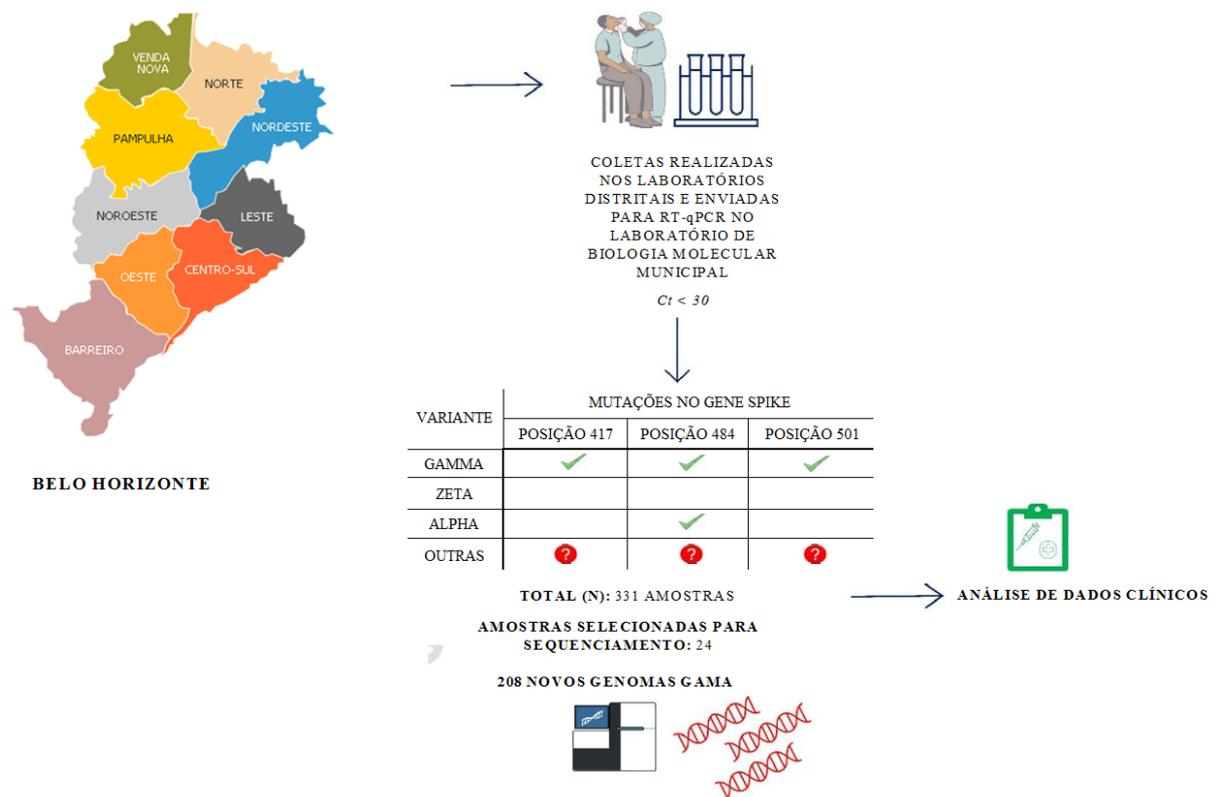
As 388 amostras clínicas foram coletadas de munícipes e trabalhadores de saúde do município de Belo Horizonte, sintomáticos, que realizaram a coleta do espécime clínico (swab nasofaríngeo), nas 9 Unidades de Pronto Atendimento (UPAs) do município, além dos 8 pontos de coleta regionais abertos exclusivamente para coleta de exames para COVID-19 dos casos sintomáticos suspeitos de Centros de saúde, com abrangência das 9 regionais administrativas do município. Tais amostras foram encaminhadas para o laboratório de biologia molecular de Belo Horizonte para detecção molecular de SARS-CoV-2 por RT-qPCR. Foram assim selecionadas as amostras positivas para COVID-19, com $ct \leq 30$ (Figura 10).

A detecção molecular do SARS-Cov-2 foi realizada por RT-qPCR, Utilizando o kit comercial Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene). Os critérios para seleção das amostras para genotipagem foram: 1) $Ct \leq 30$ para os três alvos virais (Gene E, Gene S e Gene N); 2)

amostras que contemplem da SE 1 até a SE 17 e 3) amostras que contemplem as 9 regionais do município (UPA's e unidades de coleta distrital).

Dentre as 388 amostras positivas para SARS-CoV-2, selecionadas dentro dos critérios propostos, 57 não puderam ser sequenciadas por questões de qualidade da amostra

FIGURA 10 - Estratégia de fluxo de trabalho para avaliação genômica das variantes do SARS-CoV-2 em Belo Horizonte.



Foram selecionadas 388 amostras positivas para SRA-CoV-2 com $Ct < 30$ foram obtidas das 9 Regionais de Saúde. As amostras foram triadas para mutações específicas no gene Spike através de PCR-genotyping (K417T, E484K e N501Y). Aquelas com mutações em cada posição são marcadas com o símbolo de verificação verde. Amostras que apresentaram perfil mutacional diferente são marcadas com o símbolo de interrogação vermelho. A descrição das 331 amostras válidas (descartadas amostras para as quais não foi possível genotipar ou sequenciar por motivos de qualidade da amostra), data de coleta, unidade de origem e resultado da genotipagem estão incluídas na Tabela Complementar S1. **FONTE:** Elaborado pelo autor.

3.3 Avaliação do genótipo viral

3.3.1 Síntese de cDNA e ensaio de genotipagem de rhAmp

As amostras foram genotipadas utilizando cartilhas e sondas específicas para detectar mutações de variantes definidoras (Figura 10). Sintetizamos o cDNA utilizando o Kit de Transcrição Reversa de Alta Capacidade de cDNA (Thermo Fisher Scientific) de acordo com as instruções do fabricante. O cDNA foi usado como entrada em uma reação RT-qPCR usando a tecnologia rhAmp SNP Genotyping System (Integrated DNA Technology-IDT, San Diego,

CA, EUA) como descrito anteriormente (Geddes et al., 2021). A concentração de cada solução e o volume final usado para cada reação de genotipagem foi: rhAmp Genotyping Master Mix (1X), rhAmp Reporter Mix (1,12X), e Specific SNP Primer (1,5X) em um volume final de 10 µL. As condições de ciclo foram 95 °C para 10 min e 60 ciclos com 95 °C para 15 s, 57 °C para 1 min e 68 °C para 30 s. Avaliamos as mutações K417T (A22812C), E484K (G23012A) e N501Y (A23063T). As amostras foram classificadas como indicado na Figura 10. As amostras com perfis de mutação diferentes das variantes esperadas foram denominadas "outras" e sequenciadas.

3.3.2- Preparação da Biblioteca e Sequenciamento de Genoma

O sequenciamento foi realizado utilizando duas tecnologias diferentes, Illumina (Illumina, San Diego, CA, EUA) e IonTorrent (ThermoFisher Scientific, San Francisco, CA, EUA), totalizando 331 genomas. Desse grupo, 24 amostras foram classificadas com o método de genotipagem como "outras" linhagens e foram selecionadas para sequenciamento. (Figura 10).

As bibliotecas de sequenciamento foram preparadas usando o kit QIAseq FX DNA Library Prep (QIAGEN, Germantown, MD, EUA) e sequenciadas na plataforma Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, EUA) com cartuchos v3 (600 ciclos), seguindo todas as instruções do fabricante. Foram utilizados controles negativos em cada etapa de processamento de amostras (síntese de cDNA, amplificação do genoma viral, e preparação da biblioteca). Os libraries IonTorrent foram preparados usando o painel Ion AmpliSeq SARS-CoV-2 (ThermoFisher Scientific, São Francisco, CA, EUA) e sequenciados na plataforma Ion Torrent PGM com um kit de 314 chips (ThermoFisher Scientific, São Francisco, CA, EUA) de acordo com as recomendações do fabricante. Foram utilizados três controles negativos em todas as etapas de processamento de amostras (síntese de cDNA, amplificação do genoma viral e preparação da biblioteca em cada lote).

3.3.3 - Montagem do Genoma do SARS CoV-2 e Classificação da Linhagem

Os dados de sequenciamento foram processados seguindo um pipeline previamente descrito (Moreira, D'arc, Mariani, *et al.*, 2021). Em resumo, as leituras brutas foram filtradas com fastp v0.20.1 (Chen S., Zhou Y., Chen Y., GU J., 2018) para remover leituras curtas e de baixa qualidade (Phred score < 30) e seqüências de adaptação. As leituras restantes foram

alinhas contra o genoma de referência da SARS-CoV-2 (NC_045512.2) com Bowtie2 v2.4.2 (Langmead B., Salzberg, S., 2012). Os arquivos de mapeamento foram então indexados e classificados com SAMtools v1.12 e BCFtools v2.30.0 (Li H, Handsaker B, Wysoker A, *et al.* 2009) e foram usados para inferir as seqüências de genoma de consenso. Finalmente, BEDtools [Quinlan AR, Hall IM., 2010;) foi utilizado para mascarar locais de baixa profundidade ($<10 \times$ cobertura). As seqüências com menos de 70% de cobertura do genoma foram removidas da análise a jusante. As seqüências de consenso geradas no estudo foram classificadas usando a ferramenta Pangolin v.3.1.14 e a aplicação web NextClade v.1.7.0 (Hadfield J, Megill C, Bell SM, *et al.*, 2018). As mutações associadas a possíveis novas linhagens foram verificadas manualmente nos dados de seqüenciamento em bruto. Todas as seqüências de consenso foram depositadas no banco de dados do GISAID EpiCOV.

3.4 Critérios clínicos para a qualificação de amostras e dados epidemiológicos

As amostras foram qualificadas com as condições preexistentes de risco: comorbidades, idade e sexo, a partir dos dados reportados no Sistema Nacional de Informação sobre Vigilância Epidemiológica da Gripe (SIVEP-Gripe), respeitando as leis de proteção ao paciente.

Os casos COVID-19, mortes e dados de vacinação foram obtidos em bancos de dados públicos [https:// coronavirus.saude.mg.gov.br/dadosabertos](https://coronavirus.saude.mg.gov.br/dadosabertos), SIM – Sistema de informação de mortalidade e <https://saude.gov.br> (Data de acesso: 15 de julho de 2022).

Os dados de qualificação inicial da internação (CTI ou enfermaria), tempo de internação foram analisados pelo Sistema de Internação hospitalar do Município de Belo Horizonte (Sistema SA04) e pelos dados do sistema nacional de Internação Hospitalar (SIH).

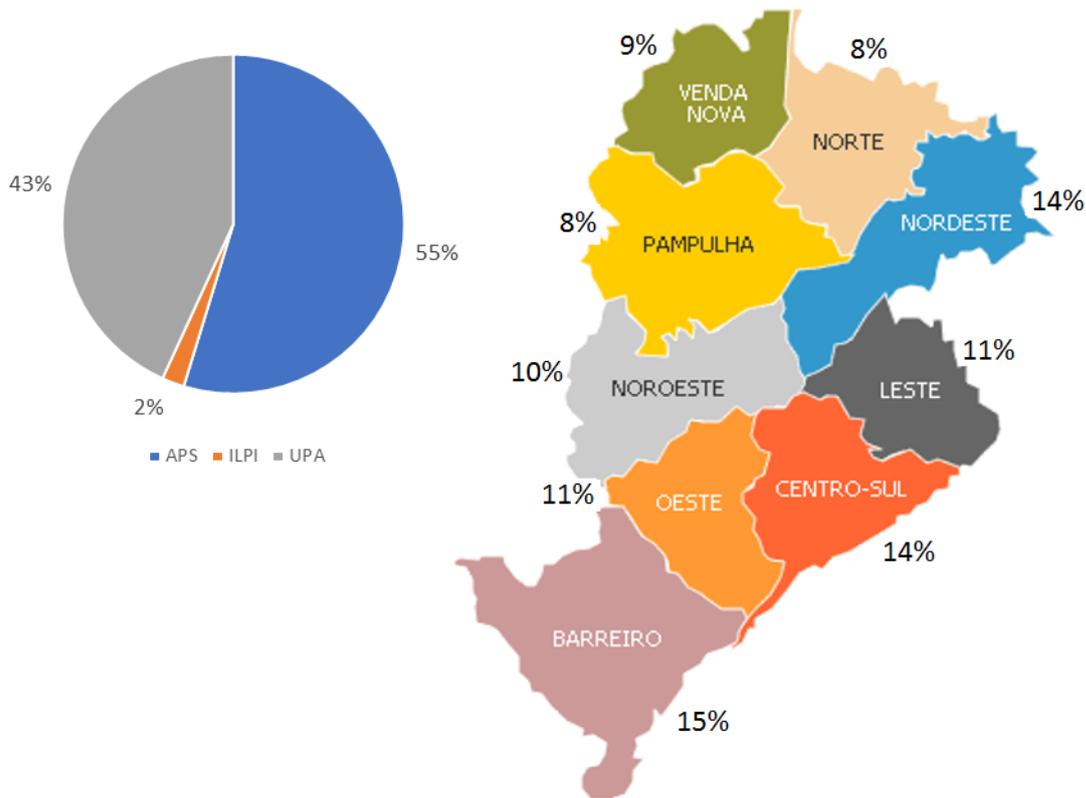
4. RESULTADOS

4.1 Caracterização geral da amostra

Considerando-se a caracterização geral das amostras genotipadas, no período do estudo, observa-se que das 331 amostras genotipadas de SARS-CoV-2, a mediana de idade dos pacientes é de 57 anos, com predomínio de mulheres (57%).

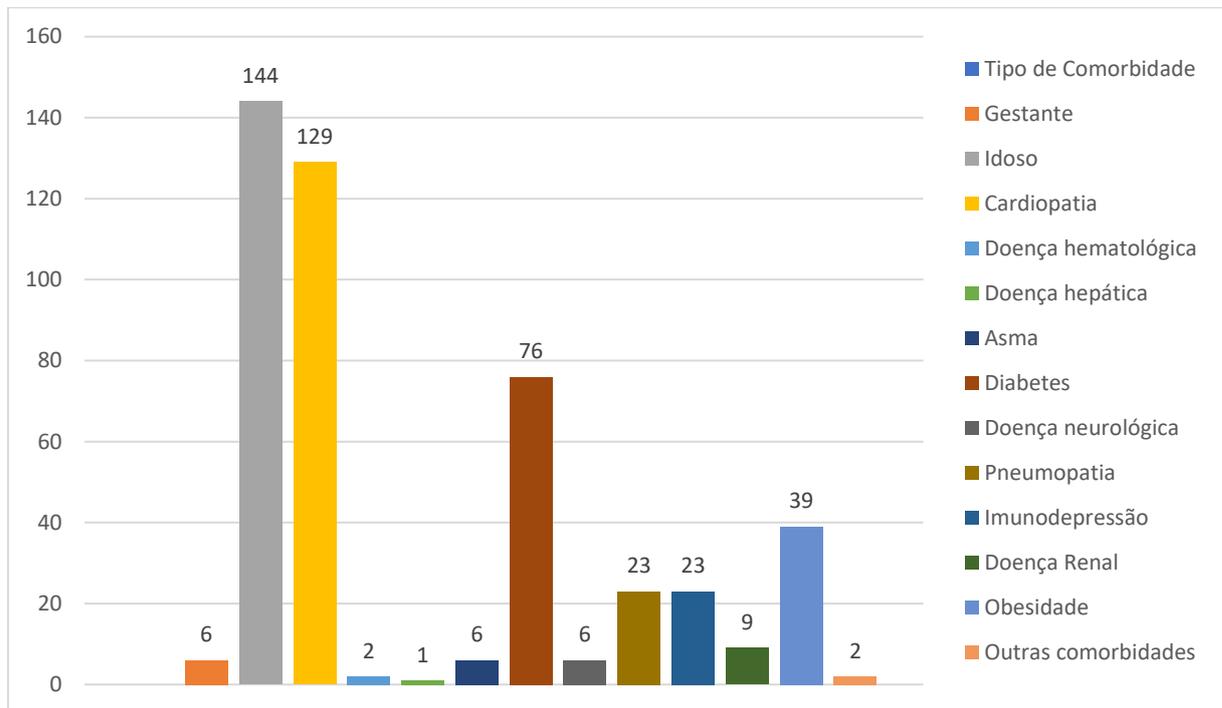
Quanto à origem das amostras observou-se que 55% foram oriundas de Unidades primárias de saúde, 2% vieram de Instituições de Longa Permanência para Idosos (ILPI) e 43% de pacientes atendidos em unidades de urgência e emergência, que apresentavam quadros de maior gravidade, haja visto que neste grupo observam-se 83,9% de casos internados contra 22,7% dos pacientes oriundos das unidades primárias.

FIGURA 11 – Distribuição das amostras por tipificação do serviço de origem e por localização do paciente na rede assistencial.



FONTE: Elaborado pelo autor.

Do total de indivíduos, 257 apresentavam uma ou mais comorbidades associadas no momento do diagnóstico da COVID-19, sendo que as comorbidades mais comuns foram (FIGURA 12): idade acima de 60 anos (154 indivíduos), cardiopatia (129 indivíduos) e diabetes (76 indivíduos).

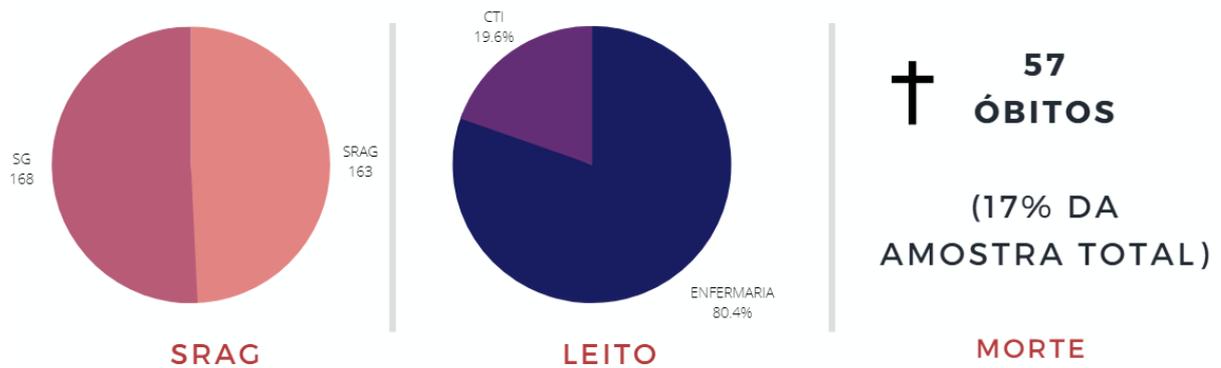
FIGURA 12 – Frequencia das comorbidades relatadas (que podem se sobrepor).

FONTE: Elaborado pelo autor.

Em relação ao estado vacinal dos indivíduos do estudo, evidencia-se 23 indivíduos vacinados (11 CORONAVAC, 11 ASTRAZENECA e 1 PFIZER), dos quais apenas 5 tiveram a 2ª dose da vacina até o final do estudo, podendo supor que há pouco ou nenhum impacto da vacinação na apresentação clínica, nos desfechos clínicos e mortalidade em nossa amostra.

Em relação ao panorama geral de gravidade e necessidade de internação, 163 pacientes necessitaram de internação em função de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), destes 131 tiveram internação inicial em leito de enfermaria e 32 em leito de CTI, sendo a média total de dias de internação de 11,07 dias (intervalo de 1 a 47 dias). A mortalidade total deste grupo, avaliada no Sistema de Informação de Mortalidade (SIM), foi de até 90 dias após o fim do estudo e considerando a causa da morte como COVID-19, identificou-se 57 óbitos.

FIGURA 13 – Frequência e percentuais dos elementos de gravidade.

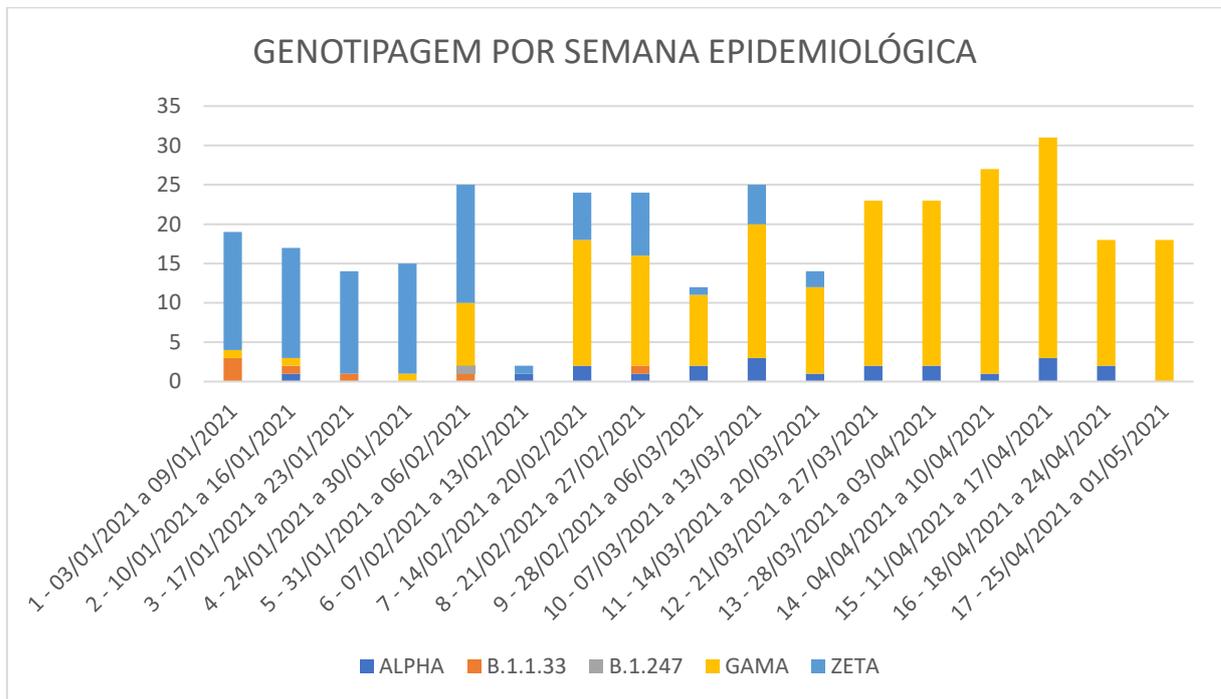


FONTE: Elaborado pelo autor.

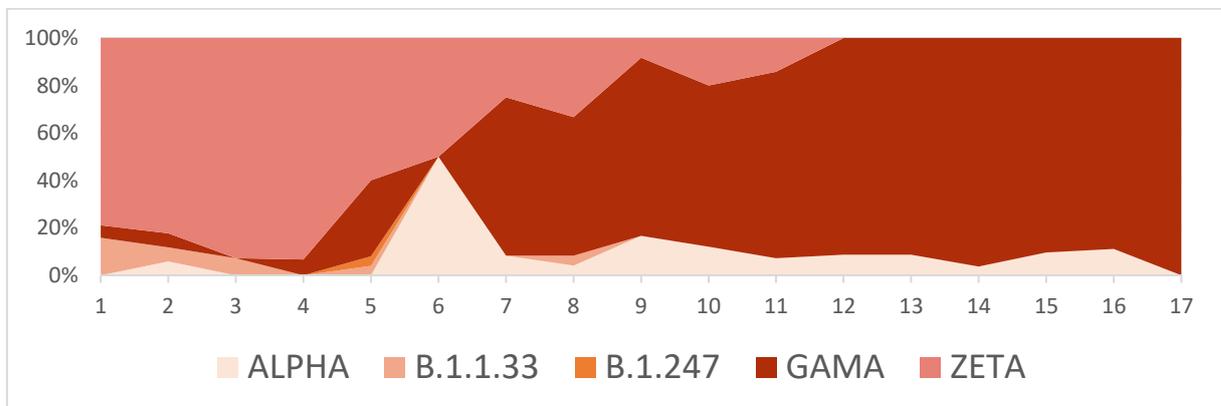
O registro do primeiro caso diagnosticado de variante Gama no município de Belo Horizonte ocorreu na primeira semana epidemiológica de 2021 (08/01/2021), com significativa ampliação da sua presença até o final do estudo, com a observação de 100% da presença da variante Gama nas amostras genotipadas nesta última semana do estudo, que foi, de forma rápida, substituindo as demais variantes, sobretudo a variante Zeta, que vinha predominando no período anterior. As solicitações e coletas de exames nos pontos de coleta descritos foi diminuída na semana 6/2021, pois esta foi a semana do carnaval, com redução de escalas e menor busca aos serviços de saúde.

GRÁFICO 3 - Genotipagem de amostras por semana epidemiológica.

A.



B.

**FONTE:** Elaborado pelo autor.

4.2 - Modelo de regressão logística

Para avaliar as hipóteses de interferência da presença ou não da variante gama definindo maior gravidade da doença, foram consideradas duas variáveis respostas:

- Internação – se o paciente foi internado (sim ou não).
- Óbito – se o paciente foi a óbito (sim ou não).

Destacam-se ainda algumas definições importantes:

- **VARIÁVEL EXPLICATIVA:** Variável que poderá ter influência
- **VARIÁVEL SIGNIFICATIVA:** Variável estatisticamente significativa ($P < 0,005$) e que

- representará fator de risco relevante no estudo.
- **VARIÁVEL RESPOSTA:** É a variável que foi influenciada pelas demais, a variável de desfecho, neste trabalho as variáveis resposta são: Internação e Óbito.
 - **VARIÁVEL DE CONFUNDIMENTO:** São variáveis que apresentam influência na variável resposta, entretanto essa influência não é direta, uma vez que ela não é uma variável significativa, porém altera a estimativa das demais variáveis.

Foram consideradas 19 variáveis explicativas, conforme apresentado no quadro 1.

TABELA 2 - Lista de variáveis explicativas (perfil dos pacientes)

Variável	Nível	Comentários
Idade		Idade do paciente ao entrar no sistema
Sexo	1 – Masculino; 0 – Feminino	
Comorbidades	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía pelo menos um tipo de comorbidade
Gestante	1 – Sim; 0 – Não	O paciente estava gestante
Idoso	1 – Sim; 0 – Não	O paciente era idoso
Cardiopatia	1 – Sim; 0 – Não	O paciente era cardiopatia
Doença Hematológica	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía doença hematológica
Doença Hepática	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía doença hepática
Asma	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía asma
Diabetes	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía diabetes
Doença Neurológica	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía doença neurológica
Pneumopatia	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía pneumopatia
Imunodepressão	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía imunodepressão
Doença Renal	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía doença renal
Obesidade	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía obesidade

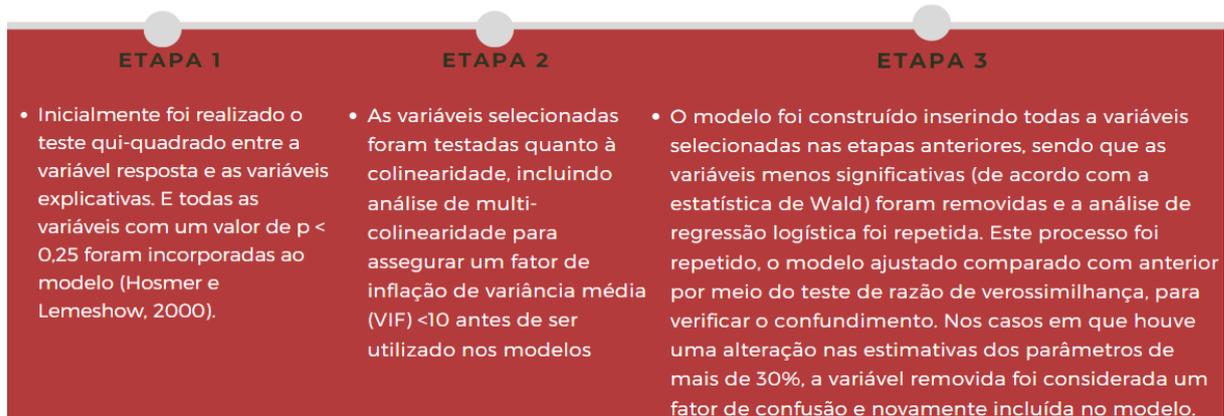
Outras Comorbidades	1 – Sim; 0 – Não	O paciente possuía alguma comorbidade não listada anteriormente
Número de Comorbidades		
SRAG	1 – Sim; 0 – Não	O paciente apresentava sintomas de SRAG
Genotipagem do Coronavírus	1 – Gama; 0 – Outros	

FONTE: Elaborado pelo autor.

Para avaliar a associação entre as variáveis explicativas e a internação/óbito foi construído um modelo de regressão logística, em que se propôs avaliar a relação entre a infecção pela variante gama ou por outras variantes do SARS-CoV-2 e sua interferência na internação (tabelas 2 a 7) e na mortalidade (Tabelas 8 a 13), seguindo os três passos seguintes para os indivíduos com variante gama e com as demais variantes do SARS-CoV-2.

FIGURA 14 - Etapas da regressão logística

REGRESSÃO LOGÍSTICA



FONTE: Elaborado pelo autor.

ETAPA 1 – Teste qui-quadrado

TABELA 3 - Teste qui quadrado - Relação entre a internação, mortalidade e as variáveis explicativas de pacientes com variante gama e outras variantes do SARS-CoV-2

		INTERNAÇÃO		MORTALIDADE	
		GAMA	OUTRAS VARIANTES	GAMA	OUTRAS VARIANTES
Variável	Nível	valor-p	valor-p	valor-p	valor-p
Faixa Etária	11 a 20 anos	0,0027	<0,0001	<0,0001	0,0001
	21 a 30 anos				
	31 a 40 anos				
	41 a 50 anos				
	51 a 60 anos				
	61 a 70 anos				
	71 a 80 anos				
	81 a 90 anos				
91 a 100 anos					
Sexo	Feminino	0,3521	0,9597	0,2234	0,9999
	Masculino				
Comorbidades	Não	0,0071	<0,0001	0,0012	0,0588
	Sim				
Gestante	Não	0,4728	0,1062	0,9999	0,9221
	Sim				
Idoso	Não	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0056
	Sim				
Cardiopatia	Não	0,0024	0,0659	0,0203	0,1738
	Sim				
Doença Hematológica	Não	0,9999	0,4371	0,9999	0,6585
	Sim				
Doença Hepática	Não	0,9959	0,9999	0,9999	0,9999
	Sim				
Asma	Não	0,1323	0,4371	0,9999	0,6585
	Sim				
Diabetes	Não	0,0054	0,0792	0,0744	0,1233
	Sim				
Doença Neurológica	Não	0,9999	0,2122	0,0046	0,072
	Sim				
Pneumopatia	Não	0,1011	0,4506	0,7242	0,0262
	Sim				
Imunodepressão	Não	0,1317	0,4323	0,9999	0,9999
	Sim				
Doença Renal	Não	0,9999	0,054	0,351	0
	Sim				
Obesidade	Não	0,0004	0,4506	0,0167	0,1657
	Sim				
Outras Comorbidades	Não	0,9999	0,9999	0,9999	0,6585
	Sim				
Número de Comorbidades	0	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	1				
	2				
	3				
	4				
	6				
SRAG	Não	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	Sim				

FONTE: Elaborado pelo autor.

Na tabela 2 é apresentado a relação entre a internação, mortalidade e as variáveis explicativas para os pacientes com a variante gama e as outras variantes do SARS-CoV-2. As variáveis significativas (valor-p<0,05) estão destacadas em negrito. Elas indicam quais são os

fatores de risco para o paciente ser internado ou morrer, quando infectado pela variante gama ou por outras variantes do SARS-CoV-2. Além destas variáveis também foram incluídas no modelo inicial as variáveis com valor- $p < 0,25$. Assim, o modelo inicial testado todas as variáveis explicativas com valor- $p < 0,25$. Observa-se ainda que as variáveis faixa etária, comorbidades, idoso, número de comorbidades e SRAG, foram significativas em todas as relações.

Para testar todas as variáveis significativas quanto a colinearidade, foi aplicado o Fator de Inflação de Variância (VIF).

ETAPA 2 – Análise de colinearidade

TABELA 4 - Análise de colinearidade - Fator de inflação de variância média (VIF) para o modelo logístico para internação de pacientes com a variante gama

Variável	INTERNAÇÃO		MORTALIDADE	
	GAMA	OUTRAS VARIANTES	GAMA	OUTRAS VARIANTES
Variável	VIF	VIF	VIF	VIF
Sexo				1,3992
Idade	2,49	35,21	15,1056	2,1261
Comorbidades	58424678,19	19,1	1,6911	1
Idoso	137050703,6	3,93	3,5033	2,9924
Cardiopatia	31529200,54	13,89	4,5604	3,2615
Diabetes	2,99	8,16	2,5726	3,3622
Obesidade	1,67		2,151	
Número de Comorbidades	218407946,1	9,1	10,5999	10,9455
SRAG	116713784,9	14,68	1	1,0617
Gestante		1,39		
Asma	1,12			
Pneumopatia	1,25		3,5401	
Doença renal		14,48	4,3899	
Doença neurológica		3,7	2,9893	1
Imunodepressão	63660120,44			

FONTE: Elaborado pelo autor.

Na tabela 4 é apresentado o Fator de Inflação de Variância Média (VIF) para cada variável do modelo. As variáveis que apresentam um VIF alto ou muito alto, indicam que apresentam multicolinearidade com uma ou mais variáveis, ou seja elas são combinações de outras variáveis. Assim, estas variáveis foram excluídas do modelo

Na sequência são propostos os modelos finais para cada um dos eventos:

FIGURA 15 - Organogramas de risco de internação e óbito

FONTE: Elaborado pelo autor.

Na tabela 5 são apresentadas as estimativas do modelo logístico final para internação de pacientes com variante gama, pelo teste de Hosmer & Lemeshow (valor- $p > 0,05$). Observa-se um bom ajuste do modelo, indicado pelo valor- $p = 0,3474$ (valor- $p > 0,05$). No modelo é verificado a presença de duas variáveis de confundimento: Asma e pneumopatia (valor- $p > 0,05$), que são variáveis que apresentam influência para internação de pacientes com COVID-19, entretanto essa influência não é direta. Também se observa que a idade está associada a internação dos pacientes (valor- $p < 0,05$) e a cada aumento de 10 anos na idade do paciente com a variante gama, observa-se aumento de 4,39% na chance de internação. Já a presença da obesidade, no paciente com a variante gama, contribui com um aumento de 701,12% na internação.

TABELA 5 - Estimativas do modelo logístico para internação de pacientes com a variante gama

Variáveis	Estimativa	Valor-p	Chance	IC 95%	
				LI	LS
Intercepto	-2,61	<0,0001	0,0738	0,0199	0,2467
Idade	0,04	0,0001	1,0439	1,0231	1,0669
Obesidade (Sim)	2,08	0,0013	8,0112	2,5382	34,2414
Asma (Sim)	15,89	0,9870			
Pneumopatia (Sim)	-1,27	0,1316			
Teste de ajuste de Hosmer & Lemeshow			valor- $p = 0,3474$		

FONTE: Elaborado pelo autor.

Na tabela 6 é apresentado as estimativas do modelo logístico final para internação de pacientes com outras variantes, pelo teste de Hosmer & Lemeshow (valor- $p > 0,05$) é observado um bom ajuste do modelo, indicado pelo valor- $p = 0,9849$ (valor- $p > 0,05$). No modelo é verificado observado que ser idoso, nos pacientes com outras variáveis, aumenta em 235,16%

a chance de internação. Já a cada aumento do número de comorbidades, para pacientes com outras variáveis, contribui com um aumento de 111,19% na internação.

TABELA 6 - Estimativas do modelo logístico para internação de pacientes com outras variantes do SARS-CoV-2.

Variáveis	Estimativa	Valor-p	Chance	IC 95%	
				LI	LS
Intercepto	-1,5491	0,0000	0,2124	0,1048	0,4009
Idoso (Sim)	1,2094	0,0139	3,3516	1,2874	8,9732
Número de comorbidades	0,7476	0,0014	2,1119	1,3599	3,4263
Teste de ajuste de Hosmer & Lemeshow			valor-p= 0,9849		

FONTE: Elaborado pelo autor.

Na tabela 7 é apresentado as estimativas do modelo logístico final para óbitos de paciente com a variante gama, pelo teste de Hosmer & Lemeshow (valor-p>0,05) é observado um bom ajuste do modelo, indicado pelo valor-p = 0,4326 (valor-p>0,05). No modelo é verificado a presença uma variável de confundimento: obesidade (valor-p>0,05), indicando que apresenta influência para óbitos de pacientes com COVID19, entretanto essa influência não é direta. O modelo tem três variáveis significativas (valor-p<0,05): idade, SRAG e Sexo. A idade está associada aos óbitos positivamente, a cada aumento de 10 anos na idade do paciente com a variante gama, observa-se um aumento de 6,09% na chance de óbito. Os pacientes com a variante gama, seguidas de quadro de SRAG tem um aumento de 897,67% nos óbitos e ser do sexo masculino, infectado pela variante gama, aumenta a chance de óbito em 173,83%

TABELA 7 - Estimativas do modelo logístico para óbito de pacientes com a variante gama

Variáveis	Estimativa	Valor-p	Chance	IC 95%	
				LI	LS
Intercepto	-7,4822	0,0000	0,0006	0,0000	0,0066
Idade	0,0591	0,0007	1,0609	1,0274	1,1004
SRAG (Sim)	2,3002	0,0004	9,9767	3,1755	44,3588
Sexo (Masculino)	1,0073	0,0307	2,7383	1,1281	7,1047
Obesidade (Sim)	0,9576	0,0807			
Teste de ajuste de Hosmer & Lemeshow			valor-p= 0,4326		

FONTE: Elaborado pelo autor.

Na tabela 8 é apresentado as estimativas do modelo logístico final para óbitos de paciente com outras variantes, pelo teste de Hosmer & Lemeshow (valor-p>0,05) é observado um bom ajuste do modelo, indicado pelo valor-p = 0,9993 (valor-p>0,05). No modelo é tem três variáveis significativas (valor-p<0,05): idoso, pneumopatia e obesidade. Ser idoso com a outras variantes aumenta a chance de óbito em 509,64%. Já presença da pneumopatia em paciente com outras variantes aumenta em 442,53% a chance de óbito e ser obeso com a mesma infecção amplia em 482,71% a mesma chance.

TABELA 8 - Estimativas do modelo logístico para óbito de pacientes com outras variantes do SARS-CoV-2

Variáveis	Estimativa	Valor-p	Chance	IC 95%	
				LI	LS
Intercepto	-3,1780	<0,0001	0,0417	0,0125	0,1054
Idoso (Sim)	1,8077	0,0023	6,0964	2,0233	21,6587
Pneumopatia (Sim)	1,6911	0,0193	5,4253	1,2710	22,9618
Obesidade (Sim)	1,5743	0,0449	4,8271	0,9742	22,9380
Teste de ajuste de Hosmer & Lemeshow			valor-p= 0,9993		

FONTE: Elaborado pelo autor.

5 - DISCUSSÃO

A entrada da variante gama no município de Belo Horizonte ampliou significativamente o número de casos notificados de COVID-19 (gráfico 1), em consonância com o estudo de Coutinho *et al.*, 2021 que no mesmo período evidenciou em Manaus a variante gama se apresentando 2,6 vezes mais transmissível que as suas precursoras, com significativo e rápido agravamento da situação epidemiológica local. Observa-se ainda ampliação de internações e óbitos pela doença (gráfico 2) o que foi observado de forma ampliada em todo o país por FREITAS *et al.*, 2021. Destaca-se ainda que Banho *et al.*, 2022, retratam o período como aquele com o maior número de infectados e mortos até dezembro de 2021.

O presente estudo sugere ainda que a presença da variante gama amplia a internação de pacientes mais velhos (ampliação de 4,39% na internação, a cada 10 anos vividos), seguindo a observação de um considerável número de estudos (Leung, 2020; Zhou *et al.*, 2020; Kang; Jung, 2020; Verity *et al.*, 2020) que identificou a idade como um fator de risco bem estabelecido para desfechos graves de COVID-19.

Pelas análises realizadas neste estudo, os pacientes obesos teriam 7 vezes mais chances de internar, que aqueles apresentando outras variantes, o estudo de Fresán *et al.*, (2021) que analisou 433.995 pacientes infectados com COVID-19, sem seleção de variante e realizado antes da circulação da variante gama, observou que os pacientes com obesidade apresentaram risco aumentado de hospitalização (risco relativo ajustado [aRR]: 2,20). Gao *et al.*, (2020) verificaram que indivíduos com obesidade apresentaram maior gravidade e tempo de internação ao serem infectados com COVID-19 (OR ajustado: 3,00 para obesidade, OR ajustado: 1,13 para IMC).

Ao avaliar o diagnóstico de COVID-19, pela variante gama e sua interferência na mortalidade, observou-se ampliação da mortalidade nos pacientes mais velhos (ampliação de 6,09% na mortalidade, a cada 10 anos). Richardson *et al.*, 2020 identificaram que as mortes entre os pacientes hospitalizados por COVID-19 (sem especificação de variante) foram 25,9% em pacientes com 80 anos ou mais, 12,6% para pacientes na faixa etária de 70 anos, 6,4% para aqueles com 60 anos, 4,8% para os indivíduos com 50 anos e 3,3% em pacientes na faixa dos 40 anos ou menos, evidenciando uma tendência de ampliação da mortalidade com o aumento da idade.

Observou-se ainda, no presente estudo, que os pacientes infectados com a variante gama apresentaram maior desenvolvimento de SRAG ampliando aproximadamente 9 vezes a chance de mortalidade. O estudo de Zzvascki AP, Vieceli T, Wonk PL, *et al.* que comparou 2 coortes, uma na “primeira onda” da pandemia de COVID-19 (sem a presença da variante gama) e outra na “segunda onda” com a presença da variante (em amostras genotipadas), identificou que a infecção com a variante gama foi associada a um risco maior de SRAG, de requerer suporte respiratório avançado, sendo que a mortalidade após 28 dias do início dos sintomas e da admissão hospitalar também foi significativamente maior em pacientes infectados por gama do que em pacientes não infectados por gama.

Foi indentificado que em indivíduos do sexo masculino, com a variante gama apresentaram 1,7 vezes mais chance de morrer por COVID-19. O resultado assemelha-se ao estudo de Dessie Z.G, Zewotir T; 2021 que evidenciou risco ajustado para forma crítica da doença, necessidade de terapia intensiva e óbito por covid-19, 1,63 (IC 95% 1,44-1,84) vezes maior entre homens em relação às mulheres, sendo que uma metanálise posterior apontou risco maior de internação em terapia intensiva (OR 2,84; IC 95% 2,06-3,92) e de mortalidade (1,39; 1,31-1,47) no sexo masculiuno (Peckhm H., De Gruijter N.M., Raine C., *et al.*, 2020).

A análise do grupo de pacientes com outras variantes do SARS-CoV-2, neste estudo, também mostra ampliação de chance de internação para o grupo dos idosos (acima de 60 anos)

e quanto maior for o número de comorbidades do paciente, bem como, ampliação do risco de morte no grupo dos idosos, pneumopatas e obesos.

Um ponto importante destacamos é fato de que as estratégias de genotipagem do SARS CoV-2, têm sido fundamentais para compreender a dinâmica da panemia da COVID-19 em todos os continentes e precisam ser constantemente ampliadas como uma potente ferramenta de vigilância em saúde. Estudos mais detalhados que busquem ampliar este conhecimento genômico, associado a apresentação clínica da doença e as possíveis mudanças epidemiológicas que as mutações virais podem trazer são necessários para abordar o impacto de diferentes processos epidemiológicos e evolutivos da doença.

As informações genômicas combinadas à apresentação clínica da COVID-19 em um determinado território e período, devem ser um alerta e reforçar a importância de compreender melhor a epidemiologia, a fisiopatologia, aspectos imunológicos e clínicos associados às variantes conhecidas hoje e as que provavelmente virão, num esforço síncrono mundial, que apresenta ainda maior significância num país como o Brasil, que tem confluído características importantes para o surgimento de novas variantes. Este conjunto de dados irá ampliar e garantir respostas mais acertadas no combate a pandemia.

Ao identificar fatores de risco individuais, relacionados com agravamento (hospitalização) e morte por COVID-19, correlacionando dados laboratoriais (genotipagem do SARS-CoV-2) com dados clínicos e epidemiológicos de um dos momentos mais críticos da saúde pública mundial, este trabalho lança luz aos aspectos influenciadores do agravamento da COVID-19 em nosso município. Os achados apontam para importância que uma nova variante viral pode trazer para o curso de uma doença e para toda a dinâmica social que a cerca. Do ponto de vista do paciente, idade, sexo e presença de comorbidades possuem um papel central nas probabilidades de internação e óbitos. No sentido científico, este estudo se utiliza de uma metodologia que faz uso combinado de bases de dados com o intuito de verificar as suas hipóteses. O número considerável de genótipos definidos contribui para a busca de precisão dos achados e do melhor poder estatístico de seus resultados, de modo que os achados, foram consistentes com a literatura sobre o tema, nos pontos sobrepostos. Há, no entanto, limitações no estudo, que estão relacionados a fatores macropolíticos não abordados diretamente, mas que o trabalho pondera, como a pressão de demanda e o grau de organização dos diversos municípios e seus serviços de saúde. Outro ponto a ser discutido está relacionada a base de dados do Sivep-Gripe, que possui campos de informações sem o adequado preenchimento, tais como comorbidades, que tem grande influência nos resultados do estudo. Para a verificação deste ponto, por exemplo, abrimos mão do cruzamento de outras bases de dados no sentido de

buscar o resultado mais assertivo. Apesar de tais deficiências, em relação a outros estudos que testaram hipóteses semelhantes podemos identificar robustez e similaridade nos resultados, que reforçam a importância da ferramenta de vigilância genômica para traçar estratégias de saúde pública.

6. CONCLUSÕES

Em resumo, o presente estudo sugere que a infecção pela variante gama tem relação direta com mudança epidemiológica da Pandemia de COVID-19, no primeiro quadrimestre de 2021 em Belo Horizonte, sugerindo-se ainda que a infecção pela variante de preocupação gama amplia o risco de desfechos desfavoráveis (internação e morte) pois pode estar associada a um curso clínico mais grave, sendo que em comparação à infecção por outras variantes do SARS-CoV-2, a gama torna significativo o risco de internação para os pacientes obesos e com o transcorrer da idade (a cada 10 anos vividos), além de ampliação do risco de mortalidade dos pacientes infectados com a variante gama entre homens, obesos e com o transcorrer da idade (a cada 10 anos vividos).

O estudo sugere ainda a possibilidade do desenvolvimento de ferramentas e metodologias que permitam uma vigilância genômica aprimorada e em tempo real, com custos mais baixos que permita respostas mais céleres das políticas de saúde pública.

O acompanhamento tempestivo da dinâmica de entrada da variante gama no município de Belo Horizonte e seu crescimento exponencial, acompanhado da grande mudança de necessidade de recursos em saúde, certamente proporcionou que a gestão de saúde municipal, pudesse se preparar, ainda que estivesse num panorama de recursos já bastante pressionado, afim de reduzir danos e ampliar a busca de soluções para a grande pressão assistencial que não só Belo Horizonte mas todo o país vivenciou no primeiro quadrimestre de 2021.

7. REFERÊNCIAS

ALANAGREH, L.; ALZOUGHLOO, F.; ATOUM, M. The Human Coronavirus Disease COVID-19: Its Origin, Characteristics, and Insights into Potential Drugs and Its Mechanisms. **Pathogens**, v. 9, n. 5, p. 331, 2020.

ALBUQUERQUE, M.V; RIBEIRO, L. H. L. Desigualdade, situação geográfica e sentidos da ação na pandemia de COVID-19 no Brasil. **Saúde Pública**, v. 36, n. 12, e00208720, 2021.

ALTHOUSE, B. M. *et al.* Superspreading events in the transmission dynamics of SARS-CoV-2: Opportunities for interventions and control. **PLoS biology**, v. 18, n. 11, p. e3000897, 2020.

AVANZATO, V. A. *et al.* Case Study: Prolonged Infectious SARS-CoV-2 Shedding from an Asymptomatic Immunocompromised Individual with Cancer. **Cell**, v. 183, n. 7, p. 1901-1912.e9, 2020.

BADAWI, A.; RYOO, S. G. Prevalence of comorbidities in the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 49, p. 129–133, 2016.

BAUM, F. *et al.* Explicando o desempenho da covid-19: quais fatores podem prever respostas nacionais? **BMJ**, v. 372, n. 91, 2021.

BRIZZI, A; WHITTAKER, C; SERVO, LMS *et al.* Spatial and temporal fluctuations in COVID-19 fatality rates in Brazilian hospitals. **Nat Med.**, v. 28, p. 1476–1485, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01807-1>.

CANNISTRACI, C. V.; VALSECCHI, M. G.; CAPUA, I. Age-sex population adjusted analysis of disease severity in epidemics as a tool to devise public health policies for COVID-19. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 11787, 2021.

CASCELLA, A *et al.*, 2023. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) [Updated 2023 Jan 9]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>

CASTRO, Márcia C *et al.* Sistema Único de Saúde no Brasil: os primeiros 30 anos e perspectivas para o futuro. **Lancet**, v. 394, p. 345–356, 2019. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31243-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31243-7)

FUNCIA, FR. Subfinanciamento e orçamento federal do SUS: referências preliminares para alocação de recursos adicionais. **Cien. Saúde Colet.**, v. 24, p. 4405–4415, 2019.

CASTRO *et al.* **Redução da expectativa de vida no Brasil após a COVID-19. Nat. Med.**, v. 27, p. 1629–1635, 2021.

CHAFEKAR, A.; FIELDING, B. C. MERS-CoV: Understanding the Latest Human Coronavirus Threat. **Viruses**, v. 10, n. 2, 24, 2018.

CHAN, J. F.-W. *et al.* A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 514–523, 2020.

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**, v. 9, n. 1, p. 221–236, 2020.

CHEN S., ZHOU Y., CHEN Y., GU J.. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. **Bioinformatics**, v. 34. N. 17, p. i884-i890, 2018. doi:10.1093/bioinformatics/bty560

CHEN, L.; ZHONG, L. Genomics functional analysis and drug screening of SARS-CoV-2. **Genes & Diseases**, v. 7, , n. 4, p. 542-550, 2020.

CHEN, Y. *et al.* Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. **Ageing Research Reviews**, v. 65, p. 101205, 2021.

CHOI, B. *et al.* Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host. **The New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 23, p. 2291–2293, 2020.

CLARO, IM, *et al.* Local Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7, Brazil, December 2020. **Emerg Infect Dis.**, v. 27, n. 3, p. 970-972, 2021. doi:10.3201/eid2703.210038.

DE GROOT, R. J. *et al.* Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV): Announcement of the Coronavirus Study Group. **Journal of Virology**, v. 87, n. 14, p. 7790–7792, 2013.

DEJNIRATTISAI, W. *et al.* Antibody evasion by the P.1 strain of SARS-CoV-2. **Cell**, v. 184, n. 11, p. 2939- 2954.e9, maio 2021.).

DESSIE ZG, ZEWOTIR T. Mortality-related risk factors of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of 42 studies and 423,117 patients. **BMC Infectious Diseases**,v. 21, n. 1. 855, 2021.

DOCHERTY, A. B. *et al.* Features of 16,749 hospitalised UK patients with COVID-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol. **medRxiv**, 2020.

DU, R. H. *et al.* Predictors of mortality for patients with COVID-19 pneumonia caused by SARS-CoV-2: a prospective cohort study. **European Respiratory Journal**, v. 55, n. 5, p. 2000524, 2020.

DUMACHE, R. *et al.* SARS-CoV-2: An Overview of the Genetic Profile and Vaccine Effectiveness of the Five Variants of Concern. **Pathogens**, v. 11, n. 5, p. 516, 2022.

ENDO, A. *et al.* Estimating the overdispersion in COVID-19 transmission using outbreak sizes outside China. **Wellcome Open Research**, v. 5, p. 67, 2020.

FADINI, G. P. *et al.* Prevalence and impact of diabetes among people infected with SARS-CoV-2. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 43, n. 6, p. 867–869, 2020.

FARIA, N. R. *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

FERNANDEZ, C. *et al.* Plasma levels of the proprotein convertase furin and incidence of diabetes and mortality. **Journal of Internal Medicine**, v. 284, n. 4, p. 377–387, 2018.

FEZEU, L *et al.* Obesity is associated with higher risk of intensive care unit admission and death in influenza A (H1N1) patients: a systematic review and metaanalysis. **Obesity Reviews**, v. 12, n. 8, p. 653–659, 2011.

FLORES-VEGA, V. R. *et al.* SARS-CoV-2: Evolution and Emergence of New Viral Variants. **Viruses**, v. 14, n. 4, p. 653, 2022.

FÖLDI, M. *et al.* Visceral Adiposity Elevates the Risk of Critical Condition in COVID19: A

Systematic Review and Meta-Analysis. **Obesity**, v. 29, n. 3, p. 521–528, 2021.

FOSBØL, E. L. *et al.* Association of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor or Angiotensin Receptor Blocker Use With COVID-19 Diagnosis and Mortality. **JAMA**, v. 324, n. 2, p. 168–177, 2020.

FREITAS *et al.* O surgimento da nova variante P. 1 do SARS-CoV-2 no Amazonas (Brasil) foi temporariamente associado a uma mudança no perfil de idade e sexo da mortalidade por COVID-19: um estudo ecológico de base populacional. **Lancet Reg. Saúde Am.**, v. 1, 100021, 2021

FRESÁN, U. *et al.* Independent Role of Severe Obesity as a Risk Factor for COVID19 Hospitalization: A Spanish Population-Based Cohort Study. **Obesity**, v. 29, n. 1, p. 29–37, 2021.

FUGINO, T. *et al.* Nova variante do SARS-CoV-2 em viajantes do Brasil para o Japão. **Emerg. Infectar. Dis.**, v. 27, p. 1243–1245, 2021.

FUNG, T. S.; LIU, D. X. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. **Annual Review of Microbiology**, v. 73, n. 1, p. 529–557, 2019.

GAO, F. *et al.* Obesity Is a Risk Factor for Greater COVID-19 Severity. **Diabetes Care**, v. 43, n. 7, p. e72–e74, 2020.

GIDARI, A *et al.* Cross-neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 and P.1 variants in vaccinated, convalescent and P.1 infected. **J Infect.**, v. 83, n. 4, p. 467-472, 2021. doi:10.1016/j.jinf.2021.07.019.

HADFILD, J *et al.* Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. **Bioinformatics**, v. 34, n. 23, p. 4121-4123, 2018. doi:10.1093/bioinformatics/bty407.

HALDANE V. *et al.* Resiliência dos sistemas de saúde na gestão da pandemia de COVID-19: lições de 28 países. **Nat. Med.**, v. 27, p. 964–980, 2021.

HAMRE, D.; PROCKNOW, J. J. A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 121, n.1, p.190–193, 1966.

HOFFMANN, M. *et al.* SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 271- 280.e8, 2020.

HOFFMANN, M. *et al.* SARS-CoV-2 variants B.1.351 and P.1 escape from 84 neutralizing antibodies. **Cell**, v. 184, n. 9, p. 2384- 2393.e12, 2020.

IGNATIEVA, A.; HEIN, J.; JENKINS, P. A. Ongoing recombination in SARS-CoV-2 revealed through genealogical reconstruction. **Molecular Biology and Evolution**, v. 39, n. 2, msac028, 2022. Doi: 10.1093/molbev/msac028

JACKSON, B *et al.* Generation and transmission of interlineage recombinants in the SARS-CoV-2 pandemic. **Cell**. v. 184, n. 20, p. 5179-5188.e8, 2021. doi:10.1016/j.cell.2021.08.014

KADRI *et al.* Association Between Caseload Surge and COVID-19 Survival in 558 U.S. Hospitals, March to August 2020. *Ann Intern Med.*, v. 174, n. 9, p. 1240-1251, 2021. doi:10.7326/M21-1213

KANG, S.-J.; JUNG, S. I. Age-Related Morbidity and Mortality among Patients with COVID-19. **Infection & Chemotherapy**, v. 52, n. 2, p. 154, 2020.

KEMP, S. A. *et al.* SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection. **Nature**, v. 592, n. 7853, p. 277–282, 2021.

KHAILANY, R. A.; SAFDAR, M.; OZASLAN, M. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. **Gene Reports**, v. 19, p. 100682, 2020.

KLANG, E. *et al.* Severe Obesity as an Independent Risk Factor for COVID-19 Mortality in Hospitalized Patients Younger than 50. **Obesity**, v. 28, n. 9, p. 1595– 1599, 2020.

KLOK, F. A. *et al.* Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. **Thrombosis Research**, v. 191, p. 145–147, 2020.

KULCSAR, K. A. *et al.* Comorbid diabetes results in immune dysregulation and enhanced disease severity following MERS-CoV infection. **JCI Insight**, v. 4, n. 20, 2019.

LANGMEA B., SALZBERG, S. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. **Nat Methods**, v. 9, p. 357–359, 2012. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>.

LI, H *et al.* The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. **Bioinformatics**, v. 25, n. 16, p. 2078-2079, 2009. doi:10.1093/bioinformatics/btp352.

LI, J *et al.* **The emergence, genomic diversity and global spread of SARS-CoV-2.** **Nature**, v. 600, p. 408–418, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04188-6>.

LI, B. *et al.* Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID19 in China. **Clinical Research in Cardiology**, v. 109, n. 5, p. 531–538, 2020.

LI, G. *et al.* Coronavirus infections and immune responses. **Journal of Medical Virology**, v.92, n. 4, p. 424–432, 2020a.

LI, R. *et al.* Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). **Science**, v. 368, n. 6490, p. 489–493, 2020b

LIANG W, *et al.* Cancer patients in SARSCoV-2 infection: a nationwide analysis in China. **Lancet Oncol.**, v. 21, p. 3, p. 335–357, 2020.

LEUNG, C. Risk factors for predicting mortality in elderly patients with COVID-19: A review of clinical data in China. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 188, p. 111255, 2020.

LYTRAS T, TSIODRAS S. Total patient load, regional disparities and in-hospital mortality of intubated COVID-19 patients in Greece, from September 2020 to May 2021. **Scand J Public Health**, v. 50, n. 6, p. 671-675, 2022. doi:10.1177/14034948211059968

MAGALHAES, T. *et al.* The Endless Challenges of Arboviral Diseases in Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 5, n. 2, p. 75, 2020.

MAIER, H. E. *et al.* Obesity Increases the Duration of Influenza A Virus Shedding in Adults. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 218, n. 9, p. 1378–1382, 2018.

MALAVAZOS, A. E. *et al.* Targeting the Adipose Tissue in COVID-19. **Obesity** (Silver Spring, Md.), v. 28, n. 7, p. 1178–1179, 2020.

MALIK, Y. A. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. **The Malaysian Journal of Pathology**, v. 42, n. 1, p. 3–11, 2020.

MCCARTHY, K. R. *et al.* Recurrent deletions in the SARS-CoV-2 spike glycoprotein drive antibody escape. **Science** (New York, N.Y.), v. 371, n. 6534, 89 p. 1139–1142, 2021.

MCCORMICK, K. D.; JACOBS, J. L.; MELLORS, J. W. The emerging plasticity of SARS-CoV-2. **Science** (New York, N.Y.), v. 371, n. 6536, p. 1306–1308, 2021.

MENG, B. *et al.* Recurrent emergence of SARS-CoV-2 spike deletion H69/V70 and its role in the Alpha variant B.1.1.7. **Cell Reports**, v. 35, n. 13, p. 109292, 2021.

MITTAL, A.; KHATTRI, A.; VERMA, V. Structural and antigenic variations in the spike protein of emerging SARS-CoV-2 variants. **PLOS Pathogens**, v. 18, n. 2, p. e1010260, 2022.

MOREIRA, D'ARC, MARIANI, *et al.* Epidemiological dynamics of SARS-CoV-2 VOC Gamma in Rio de Janeiro, Brazil. **Virus Evol.**, v. 7, n. 2, veab087, 2021. doi:10.1093/ve/veab087

MULBERRY, N. *et al.* Vaccine rollout strategies: The case for vaccinating essential workers early. **PLOS Global Public Health**, v. 1, n. 10, p. e0000020, 2021.

NAVECA, F. G. *et al.* COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P.1 emergence. **Nature Medicine**, v. 27, n. 7, p. 1230–1238, 2021b.

NAVECA, FG *et al.* O COVID-19 no Amazonas, Brasil, foi impulsionado pela persistência de linhagens endêmicas e emergência de P.1. **Nat. Med.**, v. 27, p. 1230–1238, 2021.

NEUMAN, BW *et al.* Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. **J Virol.**, v. 80, n. 16, p. 7918-7928, 2006. doi:10.1128/JVI.00645-06.

NEWTON, A. H.; CARDANI, A.; BRACIALE, T. J. The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology. **Seminars in Immunopathology**, v. 38, n. 4, p. 471–482, 2016.

OPAS. **Alerta Epidemiológico COVID-19: Aumento de Hospitalizações e Mortes Entre Pacientes Com Menos de 60 Anos de Idade. 26 de abril de 2021**; Organização Pan-Americana da Saúde: Washington, DC, EUA, 2021.

PACHIEGA, J. *et al.* Chronic heart diseases as the most prevalent comorbidities among deaths by COVID-19 in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 62, 2020.

PAHO. <https://www.paho.org/pt/noticias/1-6-2021-oms-anuncia-nomenclaturas-simples-e-faceis-pronunciar-para-variantes-interesse-e>

PECKHM, H. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU admission. **Nat Commun.**, v. 11, n. 1, p. 6317, 2020. doi:10.1038/s41467-020-19741-6.

PERLMAN, S.; NETLAND, J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n.6, p. 439–450, 2009.

PIJLS, BG *et al.* Demographic risk factors for COVID-19 infection, severity, ICU admission and death: a meta-analysis of 59 studies. **BMJ Open**, v. 11, n. 1, e044640, 2020. DOI:10.1136/bmjopen-2020-044640

POPKIN, B. M.; CORVALAN, C.; GRUMMER-STRAWN, L. M. Dynamics of the double burden of malnutrition and the changing nutrition reality. **The Lancet**, v. 395, n. 10217, p. 65–74, 2020.

QIN, S. *et al.* Genome Characterization and Potential Risk Assessment of the Novel SARS-CoV-2 Variant Omicron (B.1.1.529). **Zoonoses**, v.1, n. 1, 2020. DOI: 10.15212/ZOONOSES-2021-0024

QUINLAN AR, HALL IM. BED. Tools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. **Bioinformatics**, v. 26, n. 6, p. 841-842. doi:10.1093/bioinformatics/btq033.

RICHARDSON, S. *et al.* Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. **JAMA**, v. 323, n. 20, p. 2052, 2020.

ROCHA *et al.* Efeito das desigualdades e vulnerabilidades socioeconômicas na preparação e resposta do sistema de saúde à COVID-19 no Brasil: uma análise abrangente. **Lancet Glob. Saúde**, v. 9, p. 782–792, 2021).

RODILLA, E. *et al.* Association of Hypertension with All-Cause Mortality among Hospitalized Patients with COVID-19. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 10, p. 3136, 2020.

ROSSMAN *et al.* Carga hospitalar e aumento da mortalidade relacionada ao COVID-19 em Israel. **Nat. Comum.**, v.12, 1904, 2021.

RUIZ-QUIÑONEZ, J. A. *et al.* **Features of patients that died for COVID-19 in a hospital in the south of Mexico: A observational cohort study.** PLOS ONE, v. 16, n. 2, p. e0245394, 2021.

RUTKOWSKI, J. M.; STERN, J. H.; SCHERER, P. E. The cell biology of fat expansion. **Journal of Cell Biology**, v. 208, n. 5, p. 501–512, 2015.

SABINO, E. C. *et al.* Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite high 93 seroprevalence. **Lancet** (London, England), v. 397, n. 10273, p. 452–455, 2021.

SANTOS E SILVA, J. C. *et al.* Gene signatures of autopsy lungs from obese patients with COVID-19. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 44, p. 475–478, 2021.

SHANG, J *et al.* Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 117, n. 21, p. 11727–11734, 2020. doi:10.1073/pnas.2003138117.

SHANG, J. *et al.* Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 21, p. 11727–11734, 2020.

SNIJDER, E. J. *et al.* Ultrastructure and Origin of Membrane Vesicles Associated with the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Replication Complex. **Journal of Virology**, v. 80, n. 12, p. 5927–5940, 2006.

SONMEZ, A. *et al.* Clinical characteristics and outcomes of COVID-19 in patients with type 2 diabetes in Turkey: A nationwide study (TurCoviDia). **Journal of Diabetes**, v. 13, n. 7, p. 585–595, 2021.

SUDHAKAR, M. *et al.* Mechanisms contributing to adverse outcomes of COVID-19 in obesity. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 477, n. 4, p. 1155–1193, 2022.

TAKADA, K. *et al.* Genomic diversity of SARS-CoV-2 can be accelerated by a mutation in

the nsp14 gene. **bioRxiv**, 2020.

TAN, M. *et al.* Immunopathological characteristics of coronavirus disease 2019 cases in Guangzhou, China. **Immunology**, v. 160, n. 3, p. 261–268, 2020.

TANG, N. *et al.* Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 18, n. 4, p. 844–847, 2020.

THACHIL, J. *et al.* ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 18, n. 5, p. 1023–1026, 2020.

TIAN, W. *et al.* Predictors of mortality in hospitalized COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 10, p. 1875–1883, 2020.

TORRES *et al.* Cost-Effective Method to Perform SARS-CoV-2 Variant Surveillance: Detection of Alpha, Gamma, Lambda, Delta, Epsilon, and Zeta in Argentina. *Front Med (Lausanne)*, v. 8, 755463, 2021. doi:10.3389/fmed.2021.755463

VAN DE VEERDONK, F. L. *et al.* Kallikrein-kinin blockade in patients with COVID-19 to prevent acute respiratory distress syndrome. **eLife**, v. 9, p. e57555, 2020.

VERITY, R. *et al.* Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a modelbased analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 6, p. 669–677, 2020.

VANINSBERGHE, D. *et al.* Recombinant SARS-CoV-2 genomes are currently circulating at low levels. **Virus Evol.**, v. 7, n. 2, veab059, 2021. doi: 10.1101/2020.08.05.238386

VIANA, R. *et al.* Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. **Nature**, v. 603, n. 7902, p. 679–686, 2022.

VOLOCK, CM *et al.* Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. **J Virol.**, v. 95, n. 10, e00119-21, 2021. doi:10.1128/JVI.00119-21.

WAN, Y. *et al.* The Pneumonia Outbreak: High Isoleucine and High Valine Plus Glycine Contents Are Features of the Proteins of COVID-19 Virus. Preprints 2020, 2020020289. <https://doi.org/10.20944/preprints202002.0289.v5>

WHO COVID-19 Weekly Epidemiological Update; Organização Mundial da Saúde: Genebra, Suíça, 2022; pp. 1-23.

WOOLHOUSE, M. E. *et al.* Heterogeneities in the transmission of infectious agents: implications for the design of control programs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 94, n. 1, p. 338–342, 1997.

WEISKOPF, D.; WEINBERGER, B.; GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. The aging of the immune system. **Transplant International**, v. 22, n. 11, p. 1041–1050, 2009.

WRAPP, D. *et al.* Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion 98 conformation. **Science** (New York, N.Y.), v. 367, n. 6483, p. 1260–1263, 2020

WU, A. *et al.* Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. **Cell Host & Microbe**, v. 27, n. 3, p. 325–328, Mar. 2020.

WU, D. *et al.* To alert coinfection of COVID-19 and dengue virus in developing countries in the dengue-endemic area. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 41, n. 12, p. 1482, 2020.

WU, H.-Y.; BRIAN, D. A. **Subgenomic Proceedings of the National Academy of Sciences messenger RNA amplification in coronaviruses.**, v. 107, n. 27, p. 12257–12262, 2010

XU, H. *et al.* High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. **International Journal of Oral Science**, v. 12, n. 1, p. 1–5, 2020a.

XU, Z. *et al.* Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. **The Lancet. Respiratory Medicine**, v. 8, n. 4, p. 420–422, abr. 2020b.

ZAVASCKI, AP *et al.* Evaluation of Clinical Course of Gamma (P.1) Variant of Concern versus Lineages in Hospitalized Patients with COVID-19 in a Reference Center in Brazil. **Am J Trop Med Hyg.**, v. 107, n. 2. P. 245-251, 2022. doi:10.4269/ajtmh.21-1264

ZHOU *et al.*, 2020 - ZHOU, P. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270–273, 2020.

ZHOU, B. *et al.* Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-

based studies with 4·4 million participants. **The Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 1513–1530, 2016.

ZHUANG, Z. *et al.* Mapping and role of T cell response in SARS-CoV-2-infected mice. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 218, n. 4, p. e20202187, 2021.