

Variantes do SARS-CoV-2: devemos nos preocupar?

Prof^a Dr^a Cleonice Maria Michelin

Departamento de Análises Clínicas – Curso de Farmácia – Universidade Federal de Santa Catarina

O SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, pertence à família dos Coronavírus, que são um grupo de vírus envelopados que possuem RNA linear de fita simples sentido positivo^(1,2). O vírus apresenta um genoma com tamanho aproximado de 30 mil bases, conforme registro no banco de dados genômicos do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI)⁽³⁾. Seu genoma é constituído por 13-15 sequências abertas de leitura (do inglês, *Open Reading Frame*, ORFs), que codificam cerca de 27 proteínas estruturais e não estruturais^(2,3). Os ORFs são organizados como: replicase e protease (1a e 1b), quatro proteínas estruturais principais (glicoproteína de superfície – Spike (S), proteína do envelope (E), proteína da matriz (M) e proteína do nucleocapsídeo (N)), além de proteínas acessórias⁽²⁾.

Desde o início da pandemia de COVID-19, análises genéticas do SARS-CoV-2 em diversos países e em diferentes tempos revelaram que o vírus sofreu diversas mutações⁽⁴⁻⁸⁾. As mutações são eventos naturais da replicação viral, sendo muito mais frequentes em vírus de genoma RNA. A maior parte das mutações identificadas no SARS-CoV-2 ao longo do tempo é neutra, ou seja, não fornecem qualquer vantagem ou desvantagem para o vírus. Entretanto, um pequeno número de mutações pode fornecer novas propriedades químicas às proteínas virais, resultando em mudanças na forma como o vírus se comporta nas infecções⁽⁹⁾. Programas de vigilância genômica com compartilhamento de dados e, plataformas colaborativas *online* permitiram o rastreamento em tempo real da emergência e disseminação dessas linhagens.

Em março de 2020 uma mutação na posição 614 da proteína S da cepa de referência de Wuhan - mutação D614G - foi identificada. No início da pandemia, a maioria dos vírus tinha um ácido aspártico (representado pela letra D) nessa posição, mas desde março, uma variante mostrando uma glicina (G) na posição 614 se espalhou rapidamente pela Europa e América do Norte. Essa variante demonstrou maior infectividade (capacidade de promover infecção) em experimentos *in vitro* e observação clínica, mas seu impacto na transmissão e na virulência ainda não foi determinado^(10,11).

Outra mutação que chamou a atenção dos pesquisadores foi a N501Y, presente no domínio de ligação ao receptor (RBD) da proteína S. Nessa mutação houve a substituição do aminoácido asparagina pelo aminoácido tirosina na posição 501. A mutação foi detectada em setembro de 2020 no Reino Unido, onde foram identificadas duas linhagens de SARS-CoV-2 carregando essa mutação⁽¹²⁾. A primeira linhagem, denominada “501Y variante 1” circulou no País de Gales, não excedendo 2% das amostras sequenciadas. Já a linhagem identificada posteriormente denominada “501Y variante 2” (linhagem B.1.1.7, 20B/501Y.V1 ou VOC-202012/01) começou a circular no final de setembro de 2020, tornando-se a linhagem dominante no Reino Unido em dezembro do mesmo ano. Esse fato sugere que essa linhagem apresenta alterações que podem potencializar a velocidade de transmissão do vírus⁽¹²⁾. A linhagem B.1.1.7 apresenta, ao todo, 24 mutações. Alterações foram detectadas nas ORFs 1ab e 8 e nas proteínas estruturais N e S, incluindo a deleção de seis nucleotídeos no gene S, que resultou na perda de dois aminoácidos nas posições 69 e 70. A perda desses aminoácidos pode influenciar na sensibilidade de Kits diagnósticos que empregam sondas voltadas à detecção desta sequência. Devido à deleção, sondas usadas em ensaios comerciais perdem a capacidade de se ligar ao amplicon, gerando resultado falso negativo⁽¹³⁾.

Nesse contexto, o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações do Brasil publicou comunicado ressaltando a importância da utilização de mais de um alvo, nas reações de qPCR, para evitar resultados falso negativos, dada a eventual circulação desta ou de outras variantes que possam emergir⁽¹⁴⁾.

Mutações na posição 501 da proteína S foram identificadas também em outras linhagens. A variante 501Y.V2 (B.1.351) surgiu na África do Sul, no início de outubro e se espalhou rapidamente para regiões próximas. A variante africana abriga várias mutações, incluindo três (K417N, E484K e N501Y) no RBD da proteína S, que podem ter significado funcional. Embora o significado de todas as mutações ainda não tenha sido determinado, dados preliminares sugerem que esta linhagem pode estar associada à maior transmissibilidade⁽¹⁵⁾.

No Brasil, foram identificadas recentemente duas novas linhagens, P1 e P2, originadas da linhagem B.1.1.28. A linhagem P1, identificada em Manaus/AM, compartilha a mutação N501Y com as linhagens européia e africana, além de apresentar outras alterações genéticas importantes⁽¹⁶⁾. Em consonância com a linhagem africana, a linhagem P1 da região Amazônica também exibe mais duas mutações no RBD da proteína S, a mutação E484K e a mutação K417N, que parecem estar associadas à evasão da

resposta imune^(15,16). Segundo os autores, essa nova linhagem pode elevar os riscos de aumento da transmissibilidade e de reinfecção pelo SARS-CoV-2⁽¹⁶⁾. A linhagem P2, detectada no Rio de Janeiro em outubro de 2020, exibe a mutação E484K no RBD da proteína S⁽¹⁷⁾. Essa mutação parece estar associada ao escape de anticorpos neutralizantes contra SARS-CoV-2^(15,17).

Embora o significado de muitas das mutações apresentadas pelo SARS-CoV-2 ainda não tenha sido determinado, dados disponíveis sugerem que as novas linhagens oferecem risco de aumento na transmissibilidade e na evasão as respostas imunes^(12,15,16). Efeitos dessas mutações sobre a patogenicidade e antigenicidade do vírus ainda não foram elucidadas. Diante disso, a avaliação do impacto das mutações sobre a eficácia das vacinas, intervenções terapêuticas e recursos diagnósticos exigirá o monitoramento constante da evolução do SARS-CoV-2 e da imunidade do hospedeiro.

Referências:

1. Asrani P, Hasan GM, Sohal SS, Hassan MI. Molecular Basis of Pathogenesis of Coronaviruses: A Comparative Genomics Approach to Planetary Health to Prevent Zoonotic Outbreaks in the 21st Century. *Omi A J Integr Biol* [Internet]. 2020 Nov 1;24(11):634–44. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/omi.2020.0131>
2. Wang H, Li X, Li T, Zhang S, Wang L, Wu X, et al. The genetic sequence, origin, and diagnosis of SARS-CoV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2020 Sep 24;39(9):1629–35. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10096-020-03899-4>
3. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2020 Oct;1866(10):165878. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092544392030226X>
4. Forster P, Forster L, Renfrew C, Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2020 Apr 28;117(17):9241–3. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.2004999117>
5. Islam MR, Hoque MN, Rahman MS, Alam ASMRU, Akther M, Puspo JA, et al. Genome-wide analysis of SARS-CoV-2 virus strains circulating worldwide

- implicates heterogeneity. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Dec 19;10(1):14004. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-020-70812-6>
6. Pachetti M, Marini B, Benedetti F, Giudici F, Mauro E, Storici P, et al. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J Transl Med* [Internet]. 2020 Dec 22;18(1):179. Available from: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-020-02344-6>
 7. Toyoshima Y, Nemoto K, Matsumoto S, Nakamura Y, Kiyotani K. SARS-CoV-2 genomic variations associated with mortality rate of COVID-19. *J Hum Genet* [Internet]. 2020 Dec 22;65(12):1075–82. Available from: <http://www.nature.com/articles/s10038-020-0808-9>
 8. van Dorp L, Acman M, Richard D, Shaw LP, Ford CE, Ormond L, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2020 Sep;83:104351. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134820301829>
 9. Grubaugh ND, Petrone ME, Holmes EC. We shouldn't worry when a virus mutates during disease outbreaks. *Nat Microbiol* [Internet]. 2020 Apr 18;5(4):529–30. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41564-020-0690-4>
 10. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell* [Internet]. 2020 Aug;182(4):812–827.e19. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867420308205>
 11. Volz E, Hill V, McCrone JT, Price A, Jorgensen D, O'Toole Á, et al. Evaluating the Effects of SARS-CoV-2 Spike Mutation D614G on Transmissibility and Pathogenicity. *Cell* [Internet]. 2021 Jan;184(1):64–75.e11. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867420315373>
 12. Leung K, Shum MH, Leung GM, Lam TT, Wu JT. Early transmissibility assessment of the N501Y mutant strains of SARS-CoV-2 in the United Kingdom, October to November 2020. *Eurosurveillance* [Internet]. 2021 Jan 7;26(1). Available from: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.26.1.2002106>
 13. Bal A, Destras G, Gaymard A, Stefic K, Marlet J, Eymieux S, et al. (2021) Two-

step strategy for the identification of SARS-CoV-2 variant of concern 2
202012/01 and other variants with spike deletion H69-V70, France, August 3 to
December 2020. MedRxiv.

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.11.10.20228528v3>.

14. Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação B. e [Internet]. Redevírus MCTI.
Available from: <https://www.gov.br/mcti/pt-br/acompanhe-o-mcti/noticias/2020/12/comunicado-relativo-ao-diagnostico-molecular-de-variantes-de-sars-cov2>.
15. Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, Iranzadeh A, Fonseca V, Giandhari J, *et al.* Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. MedRxiv.
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.21.20248640v1>.
16. Faria NR, Claro IM, Candido D, Franco LAM, Andrade PS, Coletti TM, *et al.* Genomic characterisation of an emergent sars-cov-2 lineage in Manaus: preliminary findings. Virological. <https://virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manaus-preliminary-findings/586>.
17. Voloch CM, Silva Jr FR, Almeida LGP, Cardoso CC, Brustolini OJ, Gerber AL, *et al.* Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. MedRxiv.
<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.23.20248598v1>.