
Análise filogenética do SARS-Cov-2 na pandemia de COVID-19 de 2020

Phylogenetics analysis of SARS-Cov-2 in the 2020 COVID-19 outbreak

Joyce Karoline da Silva¹, Jacqueline Fátima Martins de Almeida¹

¹Curso de Biomedicina da Universidade Paulista, Campinas-SP, Brasil.

Resumo

Objetivo – Realizar análise filogenética do vírus SARS-CoV-2, em comparação a outros betacoronavírus e aplicar ferramentas in silico de análise genômica. **Métodos** – Foi realizado um estudo observacional, retrospectivo de caráter transversal no qual foram analisados sequenciamentos do genoma completo do vírus SARS-CoV-2 através do banco de dados NCBI, utilizando o termo “sars-cov-2seqs” inseridos até 25/03/2020. Foi realizado o alinhamento múltiplo de sequências (MSA) através do programa MAFFT, o cálculo de identidade e similaridade entre os sequenciamentos do vírus SARS-CoV-2 e demais Betacoronavírus utilizando o programa IVistMSA. Foi realizada ainda, a construção da árvore filogenética pelo método neighbor joining (NJ). **Resultados** – Foram encontradas 99 sequências completas do SARS-CoV-2 isoladas em 13 países. Os EUA foi o país com maior percentual de identidade, 99,98% com a sequência referência NC045512 isolada na China. Em comparação com o primeiro sequenciamento realizado no Brasil (MT126808), o percentual de similaridade foi de 99,90%. No entanto, pela análise da árvore filogenética o primeiro vírus isolado no Brasil apresentou estreita relação evolutiva com o vírus sequenciado na Itália, por pertencerem ao mesmo clado. **Conclusão** – O novo coronavírus demonstra rápida evolução, o que reforça a necessidade de medidas de contenção e prevenção para a desaceleração do contágio entre a população, como o uso de medidas de prevenção de contágio como uso de máscaras em locais públicos, o distanciamento social e evitar a formação de aglomerações, a fim de diminuir a incidências de novos casos e para não sobrecarregar ainda mais o sistema público de saúde.

Descritores: SARS-CoV-2; COVID-19; Filogenia; Infecções por coronavírus; Vigilância em saúde pública

Abstract

Objective – The aim of this study was to perform phylogenetic analysis of the SARS-CoV-2 virus, in comparison to other beta-coronaviruses and to apply silico genomic analysis tools. **Methods** – An observational, retrospective cross-sectional study was carried out in which sequences of the complete genome of the SARS-CoV-2 virus were analyzed through the NCBI database, using the term “sars-cov-2seqs” uploaded until 03/25/2020. The multiple sequence alignment (MSA) was performed using the MAFFT program, the identity and similarity calculation between the sequences of the SARS-CoV-2 virus and other Betacoronavirus was performed using the IVistMSA program. The phylogenetic tree was constructed using the neighbor joining method (NJ). **Results** – There were 99 complete SARS-CoV-2 genome sequences inserted in NCBI plataforma isolated from 13 countries. The USA was the country with the highest percentage of identity, 99.98% with the reference sequence NC045512 isolated in China. In comparison with the first sequencing performed in Brazil (MT126808), the percentage of similarity was 99.90%. However, by analyzing the phylogenetic tree, the first virus isolated in Brazil showed a close evolutionary relationship with the virus sequenced in Italy, as they belong to the same clade. **Conclusion** – The new coronavirus shows rapid evolution, which reinforces the need for containment and prevention measures to slow down contagion among the population, such as the use of contagion prevention measures such as the use of masks in public places, social distance and avoidance of formation of agglomerations, in order to reduce the incidence of new cases and not to overburden the public health system.

Descriptors: SARS-CoV-2; COVID-19; Phylogeny; Infection by coronavirus; Public health surveillance

Introdução

Em dezembro de 2019 um surto da doença emergente causada pelo novo vírus Coronavírus iniciou-se, em uma província na China chamada Wuhan e em poucos meses matou mais de 150 milhões de pessoas em todo o mundo. A doença então passou a ser chamada de COVID-19 (sigla do inglês: *Coronavirus Disease 2019*) e em 19 de março a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou estado de Pandemia, com 24.256 casos confirmados e 1.061 mortes por COVID-19 no mundo, atualmente o número de casos confirmados são de 51.251.715 casos e 1.270 930 mortes no mundo¹. Embora a OMS tenha designado o nome COVID-19, o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), também contribuiu para a nomeação do vírus como SARS-CoV-2, “coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave”².

O vírus SARS-CoV-2, também conhecido como Coronavírus, faz parte da família Coronaviridae, é um grupo de vírus RNA de cadeia positiva com uma capsula proteica que o envolve, ele recebe esse nome em decorrência do seu perfil na microscopia, parecendo uma coroa. Na mesma família, Coronaviridae, fazem parte o Sars-CoV-1 e o MERS, responsáveis por epidemias anteriores³.

O Coronavírus SARS (SARS-CoV) - do Inglês, *Severe Acute Respiratory Syndrome*, ou Síndrome Respiratória Aguda Grave, foi identificado em 2003 após o surgimento dos primeiros humanos infectados, na província de Guangdong na China, em 2002, como o causador da síndrome respiratória aguda grave (SARS)⁴. Na época, 26 países foram afetados e mais de 8.000 pessoas foram infectadas⁵. Após essa epidemia foi constatado poucos casos, mas em decorrência de acidentes em laboratório ou possível transmissão de animal para humano.

Anos depois, em 2012, um novo Coronavírus (Coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio ou MERS-CoV) até então desconhecido, foi identificado pela primeira vez na Arábia Saudita, e depois em um paciente com doença respiratória grave que havia sido transferido da região do Golfo do Oriente Médio para Londres, Reino Unido. Nesse período, cerca de 35% dos infectados chegaram a óbito. O MERS-CoV também foi identificado em dromedários em vários países do Oriente Médio, África e Sul da Ásia, o que levou a caracterização do nome Síndrome Respiratória do Oriente Médio^{6,7}.

O Coronavírus pertence a uma família de vírus chamada coronaviridae, composta por outros 14 vírus, que causam infecções respiratórias, porém dentre eles apenas 7 Coronavírus sabidamente infectam os seres humanos. Estudos apontam provável origem zoonótica do vírus, uma vez que os primeiros casos da doença foram observados em pessoas de um mercado de frutos do mar em Wuhan na China, onde é comum o consumo de animais vivos⁸. Com isso, após investigações foi sugerido que a fonte de infecção seja o morcego entretanto, além dele foi descoberto que o genoma de coronavírus detectado em Pangolins tem 85,5% a 92,4% de similaridade com SARS-CoV-2, sugerindo que este animal também tenha sido um hospedeiro do vírus, e que após mutações originou-se um vírus altamente letal capaz de infectar células humanas¹⁰⁻¹¹.

Nos seres humanos a transmissão do vírus ocorre de pessoa para pessoa, principalmente por meio de contato direto ou por gotículas espalhadas pela tosse ou espirro de um indivíduo infectado¹². Frequentemente os sintomas são semelhantes a um resfriado comum, como tosse febre e, em casos mais graves dificuldade para respirar. Os sintomas mais comuns no início da doença são febre, tosse e fadiga, enquanto outros sintomas incluem produção de escarro, dor de cabeça, hemoptise, diarreia, dispneia e linfopenia. Os pacientes infectados com COVID-19 apresentaram maior número de leucócitos, achados respiratórios anormais e aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias plasmáticas¹⁴⁻¹⁵.

Dessa forma, a principal patogênese da infecção por COVID-19 como um sistema respiratório direcionado ao vírus é a pneumonia grave, e até lesão cardíaca aguda. Níveis significativamente elevados de citocinas e quimiocinas no sangue foram observados em pacientes com infecção por COVID-19, o que pode levar o quadro a insuficiência respiratória. Devido ao processo inflamatório provocado pelo vírus, nos pulmões, o organismo reage produzindo mais fluidos e substâncias inflamatórias, podendo ocupar os alvéolos dificultando as trocas gasosas e consequentemente oxigenação do organismo¹⁶.

O quadro provocado pela infecção do vírus, pode se agravar ainda mais caso o indivíduo possua alguma doença ou condição pré-existente, como diabetes e hipertensão, por exemplo. A letalidade da doença é evidenciada pelo crescente número de casos e óbitos por Coronavírus em todo mundo, em que até 12 de novembro de 2020 foram confirmados, e relatados a OMS, 51.547.733 casos de COVID-19 e 1.275.979 mortes no mundo, além de 216 países, áreas ou territórios com casos¹⁷.

No Brasil o número de casos e óbitos foram aumentando consideravelmente desde o primeiro caso confirmado em 04 de março de 2020, mostrando constante evolução com o passar dos dias. Atualmente o país atingiu 5.700.000 casos confirmados da doença e quase 163.000 mortes. O epicentro da pandemia no Brasil é o Estado de São Paulo, com 1.123.000 casos confirmados e 39.549 mortes¹⁷.

Assim, se tratando de uma Pandemia com tamanha letalidade, causada por um agente ainda em estudo, o uso de ferramentas tecnológicas, como a bioinformática é grande aliado no combate ao novo coronavírus. Com o conjunto de ferramentas da bioinformática é possível decodificar o material genético de um organismo, como o SARS-CoV-2, editá-lo, e estudá-lo. Com o material genético do vírus sequenciado, se consegue identificar as diferentes proteínas codificadas pelo genoma.

Sendo assim, as análises *in silico* além de permitir identificar e caracterizar genomas de coronavírus, também é possível fazer o rastreamento das novas mutações virais decorrentes da expansão global da pandemia, através de comparações do sequenciamento genético dos diferentes coronavírus detectados nos pacientes. Além disso, o estudo filogenético do vírus nos permite estudar a relação evolutiva do vírus por meio do sequenciamento de dados moleculares, determinar quanto o vírus se modificou ao longo da sua evolução, em diferentes regiões do mundo. Identificando o padrão de expressão gênica ajuda a acelerar o desenvolvimento de novos testes diagnósticos, medicamentos e vacinas contra os efeitos nocivos à saúde humana provocados pelo coronavírus.

Com isso, o objetivo deste estudo foi realizar análise filogenética do vírus SARS-CoV-2, causador da COVID-19 na pandemia de 2020, em comparação a outros betacoronavírus e aplicar ferramentas *in silico* de análise genômica.

Métodos

Foi realizado um estudo observacional, retrospectivo de caráter transversal no qual foram analisados 99 sequenciamentos do genoma completo do vírus SARS-CoV-2 através do banco de dados do *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>¹⁸. Para tanto foi utilizado o termo "sars-cov-2seqs" para a pesquisa de sequenciamentos disponíveis. Utilizou-se ainda a filtragem por data de inserção dos sequenciamentos, foram apenas os sequenciamentos completos com data de postagem até 25/03/2020. Além desses, também foi realizado download dos diferentes sequenciamentos do vírus Betacoronavírus por meio do NCBI, utilizando o termo "betacoronavírus" para pesquisa. Dessa forma, o download dos sequenciamentos disponíveis de acordo com os filtros selecionados foi realizado no formato "FASTA".

Após download dos sequenciamentos em arquivo formato FASTA, foi realizado alinhamento múltiplo de sequências (MAS – sigla do inglês: *Multiple sequence alignment*) através do Programa de alinhamento múltiplo

para sequências MAFFT – <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>¹⁹ – gerando outro arquivo “FASTA”. Com isso foi possível realizar o cálculo de identidade entre os sequenciamentos do vírus SARS-CoV-2 e similaridade entre SARS-CoV-2 e demais Betacoronavirus utilizando o programa IVisTMSA (versão 1.0 developed by M.T Pervez)²⁰.

Após a realização do MAS foi realizada a construção da árvore filogenética do SARS-CoV-2 pelo método neighbor joining (NJ) também utilizando a plataforma – NCBI. Após a construção da árvore foi gerado um arquivo no formato “NEWICK”, a partir daí foi possível editá-la utilizando ferramentas gráficas pela plataforma <https://itol.embl.de/>²¹. Assim, os dados de análise filogenética foram comparados identificando a existência ou não de um ancestral comum, através da observação da raiz da árvore filogenética, que representa a linguagem ancestral, além de comparar a origem de duas ou mais linhagens filhas, através da identificação de ramos que representam história única e parte compartilhada com outras linhagens.

Resultados

Foram encontradas 99 sequências completas do SARS-CoV-2 divulgadas até 25 de março de 2020. Os vírus foram isolados em 13 países, sendo que das 99 encontradas 51% são dos EUA, 30% China, 4% Espanha, 3% Taiwan, 2% Índia, 2% Vietname e 1% Coreia, Coreia do Sul, Paquistão, Austrália, Brasil, Suécia e Nepal, em cada país. O principal material biológico utilizado para isolamento do DNA viral foi o lavado bronco alveolar.

Para o cálculo de identidade foi feito por meio de uma comparação pareada das sequências, utilizou-se como sequência referência a NC045512, sendo a primeira a ser postada no início do surto de COVID-19, em dezembro de 2019, em Wuhan na China.

A análise da árvore filogenética dos SARS-CoV-2 encontrados nesta pesquisa, mostra estreita relação evolutiva entre os vírus sequenciados no Brasil e Itália, uma vez que se encontram no mesmo clado (Figura 2).

Foi possível constatar que todas as sequências possuem acima de 99% de identidade com a sequência referência. Além disso, penas um sequenciamento apresentou 100% de identidade com a sequência referência (MN908947), também da China postado em 18 de março de 2020. O país que apresentou sequenciamento com maior porcentagem de identidade foram os EUA com 99,98% (MT163719), postado em 6 de abril. O primeiro sequenciamento postado pelo Brasil, em 06 de abril (MT126808) apresentou 99,90% de identidade. Ademais, 21% das sequências tem 99,93% de identidade e 18%, 99,92%.

O percentual de similaridade entre SARS-CoV-2 e Betacoronavirus foi superior a 47,97%, sendo que em 40% dos Betacoronavirus há mais de 55% de similaridade e 6% dos Betacoronavirus apresentaram similaridade com o SARS-CoV-2 superior a 80%.

Discussão

Desde o final de 2019 em que o governo Chinês relatou a OMS sobre o início do surto de pneumonia, iniciaram estudos para descobrir a origem dessa infecção. Assim, partir do primeiro sequenciamento genético realizado em janeiro de 2020, foi possível identificar o agente causador do surto como um novo Coronavírus. Com isso, o sequenciamento passou a ser utilizado para diagnóstico da infecção e vários sequenciamentos passaram a ser realizados e divulgados diariamente.

O país com maior número de sequenciamentos realizados desde o início da Pandemia são os EUA que também possuem o maior número de infectados no mundo, passando de 8 milhões e mais de 220 mil mortes. A China apesar de ter realizado junto com os EUA a maior quantidade de sequenciamentos chegou à marca de mais de 91 mil infectados e 4.700 mortes, número muito inferior em relação aos demais países. A Índia, com mais de 7 milhões de casos e 118 mil mortes, é o segundo país mais com maior número de infectados e mortos no mundo, e no início da pandemia realizou dois sequenciamentos⁶.

A medida em que sequenciamentos são produzidos em diversas partes do mundo se obtém mais informações sobre o vírus, e com isso é possível recriar o seu genoma em pesquisas a fim de produzir uma vacina contra o SARS-CoV-2. A partir desses dados é possível entender como a pandemia evoluiu ao longo dos dias, rastreando a região ou país de origem e verificar quanto o vírus mudou. Dessa forma, para expressão numérica da taxa de mutação do vírus é utilizado o cálculo de similaridade e identidade entre sequências. A identidade expressa o número de resíduos identificados no alinhamento, em porcentagem, a partir da comparação com o comprimento desse alinhamento, e a similaridade é o grau de semelhança entre as sequências, e o valor é baseado na identidade e/ou conservação da sequência. Para isso, neste estudo os dados utilizados foram provenientes da análise de amostras de lavado brônquico.

Nos resultados de identidade e similaridade obtidos neste estudo foi observado que entre os SARS-CoV-2 sequenciados até 25 de março existe identidade acima a 99%, ou seja, apesar de muitas mutações o vírus pouco se diferenciou. Ademais, a taxa de identidade do SARS-CoV-2 encontrado nos EUA, 99,98%, sugere que possivelmente o vírus tenha chego ao país diretamente da China, ou seja, apesar das intervenções para evitar que a transmissão atravessasse fronteiras, isso foi insuficiente para manter o vírus sob controle no país.

Na análise da árvore filogenética do SARS-CoV-2 foi possível observar que o primeiro vírus sequenciado no Brasil tem relação evolutiva com o vírus sequenciado na Itália, pois ambos pertencem ao mesmo clado. Em comparação com a sequência referência, encontrada na China, os países com maior proximidade na relação evolutiva são EUA e Taiwan. Nos dados relatados referente a porcentagem de similaridade entre Betacoronavirus e SARS-CoV-2, foi encontrada similaridade superior a 47% entre os vírus, o que reforça a hipótese

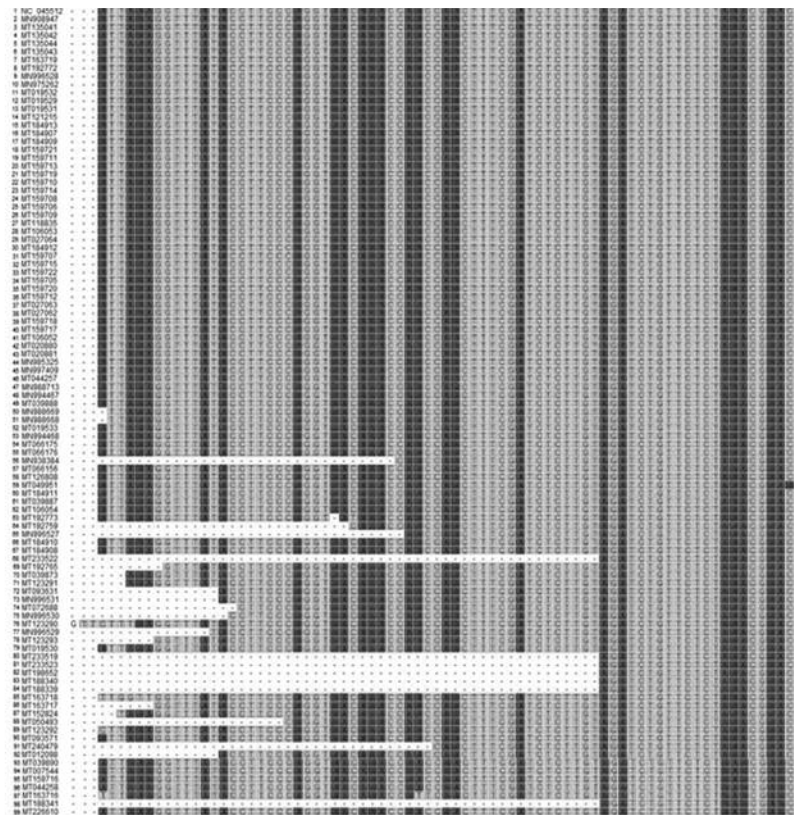


Figura 1. Alinhamento de sequência múltipla de 99 sequências do vírus SARS-CoV-2

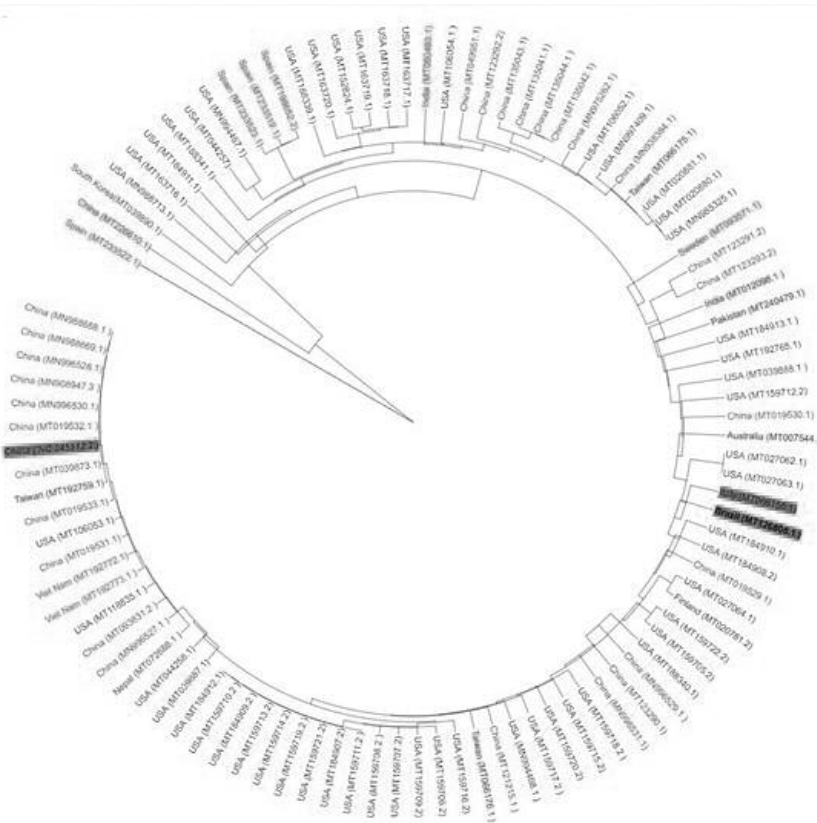


Figura 2. Árvore filogenética pelo método NJ de 99 genomas completos do SARS-coV-2 sequenciados na Pandemia de 2020 até 25 de março

de que a transmissão tenha iniciado a partir do morcego, e que com sua evolução ao longo do tempo o SARS-CoV-2 tornou-se capaz de infectar humanos.

Dessa forma, com o processo evolutivo o SARS-CoV-2 passou a ser capaz de infectar diferentes espécies, nos humanos através de uma proteína de membrana (ACE2)²², e mostrou uma tendência em infectar mais homens do que mulheres, e mais adultos que crianças, porém, mais letal para pessoas mais velhas com outras doenças²³. Assim, todas essas características do vírus dão início ao processo de pressão seletiva, em que um grupo de indivíduos passam a ter mais dificuldade, do que outros, em sobreviver diante de um novo agente infeccioso, como o SARS-CoV-2, diminuindo significativamente a população. Entretanto, do ponto de vista evolucionário, um vírus ao se introduzir em uma nova espécie causa doenças mais graves no início, mas depois passa por um processo de adaptação se tornando mais brando, para assim poder transmitir seus genes adiante²⁴.

Nesse sentido, estudos indicam que a melhor forma de conter a continuidade de transmissão do vírus, além das medidas de distanciamento social, é pelo processo de imunização do hospedeiro²⁵. A maneira mais eficiente de imunizar e erradicar uma doença é através de uma vacina, porém este é um desenvolvimento demorado que precisa passar por diferentes fases de estudo para garantir a eficácia e segurança²⁶. Por isso, o esperado é que o número de casos confirmados continue progredindo em escala geométrica pela exposição das pessoas ao vírus²⁷.

Além disso, a infecção progressiva em diversas partes do mundo é favorável para que ocorra diferenciações genéticas no vírus. Um estudo divulgado na SCIENCE sobre a evolução e disseminação do SARS-CoV-2 no Brasil, apontou que na fase inicial da pandemia ao menos 102 SARS-CoV-2 de outros países chegaram no Brasil, de acordo com análises filogeográficas, principalmente em estados com grande conectividade internacional, como São Paulo que foi epicentro da pandemia no Brasil. Ademais, os dados desse estudo também sugere que os primeiros casos no Brasil tenha sido adquiridos na Itália e Estados Unidos²⁸. Essa recombinação do vírus pode contribuir para o surgimento de uma cepa mais ou menos letal, além de influenciar no desenvolvimento da vacina, pois se o vírus permanecer com alterações genéticas frequentes, eventualmente exigiria atualizações anuais da vacina²⁹.

Conclusão

Foi possível observar que o vírus sequenciado nos EUA tem grande semelhança genômica com o encontrado na China. Entretanto, o primeiro sequenciamento realizado no Brasil apresentou maior relação evolutiva com o sequenciado na Itália. Com isso, é evidente que medidas tardias de controle de fronteiras somado a má triagem de passageiros, teve grande favorecimento na disseminação do vírus para outros países.

A construção da árvore filogenética do novo coronavírus demonstra, ainda, a rápida evolução do vírus, o

que reforça a necessidade de medidas de contenção para a desaceleração do contágio entre a população. Ressalta-se a importância da conscientização da população com o uso de medidas de prevenção de contágio como uso de máscaras em locais públicos, o distanciamento social e evitar a formação de aglomerações, a fim de diminuir a incidências de novos casos e para não sobrecarregar ainda mais o sistema público de saúde.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por ao longo deste processo ter me dado saúde e força nos momentos em que pensei em desistir, para superar as dificuldades.

Agradeço a minha orientadora Jacqueline Moraes, por todo suporte, orientação, confiança e incentivo. Gratidão imensurável. Concluir este trabalho não seria possível sem sua mentoria. Agradeço a minha mãe pelo apoio e incentivo, e aos amigos que me ajudaram nessa jornada. A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

Referências

1. Organização Mundial da Saúde. A Organização Mundial da Saúde declara pandemia do novo coronavírus. 2020.
2. International Committee on Taxonomy of Viruses. Coronaviridae Study Group. Naming the 2019. Coronavirus. 2020. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/information/w/news/1300/page>
3. Shereen Muhammad Adnan, Klan Suliman, Kazni Abeer, Bashir Nadia, Siddique Rabeea. COVID-19 infection: origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res.* 2020;24:91-8.
4. Fan Yi, Zhao Kai, Shi Zheng-Li, Zhou Peng. Bat Coronaviruses in China. *Viruses.* 2019; 11(3): 210. Doi: 103390/v11030210.
5. World Health Organization. WHO tracking a novel coronavirus. 2012. Disponível em: <https://www.who.int/bulletin/volumes/9011/12-011112/en/>
6. World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), 11 mar 2020. Disponível em: [https://www.who.int/news-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/news-syndrome-coronavirus-(mers-cov)).
7. Wit Emmio, van Doremalen Neeltje, Falzarano Darryl, Munster Vicent J. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(8):523-34. Doi: 10.1038/nrmicro. 2016.81.
8. Wu di, Liu Qun, Wu Tiantian, Yang Zhicong. The SARS-CoV2 outbreak: what we know. *Int J Infect Dis.* 2020; 94:44-8. Doi: 1016/j.ijid.2020.03.004. Epub 2020 Mar12.
9. Yan Rong Guo, Jun Jin Hong, Cao Qing Dong, Hong Zhong-Si, Tan Kai Sem, Wang DeYun. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Med Res.* 2020; 7: (11).
10. Candido DS, Claro IM, Jesus JG, Souza WM, Moreira FRR. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science.* 2020;369(6508):1255-60.

11. Yuk Tommy Tsan, Jia Na, Cao Wu-Chun. Identifying SARS-CoV-2 related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. 2020; 583: 282-5.
12. Schi Yu, Yang Bo, Wang Gang, Cai Xiao-Peng, Zheng Lin, Chen Zhi. An overview of COVID-19. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2020; 21 (5): 343-60.
13. Wolfel R, Cornam VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020; 581 (7809): 465-9.
14. Tian Sijia, Hu Nan, Lou Jing, Chen Kun, Kang Xunquim, Chen Hui, et al. Characteristics of COVID-19 infection in Beijing. *J Infect*. 2020; 80 (4): 401-6.
15. Kaka N, Baig MN, Kakodkar P. A comprehensive literature review on the clinical presentation, and management of the Pandemic coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Cureus*. 2020; 12(4): e7560.
16. Yin Yodong, Wunderink RG. MERS, SARS and other coronavirus as causes of pneumonia. *Respirology*. 2017; 23 (2): 130-7.
17. World Health Organization. Painel do WHO Coronavirus Disease (COVID-19). 2020. Disponível em: <https://covid19.who.int/>
18. National Center for Biotechnology Information. In: Sequências SARS-CoV-2 (Coronavirus 2 síndrome respiratória aguda grave). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbak/sars-cov-2 seqs/>
19. Katoh K. Multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences. Disponível em: <https://maff.cbrc.jp/alignment/server/>
20. Pervez MT, Babar ME, Nadeem A, Aslam N, Naveed N, Ahmad S, et al. Interactive Visual Tools for Multiple Sequence Alignments. *Evol Bioinform Online*. 2015; 11:35-42.
21. Interactive Tree of Life (iTOL). Disponível em: <https://itol.embl.de/>
22. Wu Lili, Chen Quian, Wang Jia, Liu Kefang, Han Peng Cheng, Zhang Yanfang, et al. Broad host range of SARS-CoV-2 on the molecular basis for SARS-CoV-2 binding to cat ACE2. *Cell Discov*. 2020; 6: 68. Doi:org/10.1038/s41421-020-00210-9.
23. Shi Yu, Wang Gang, Cai Xiao – Peng, Deng Jing-Wen, Zheng Lin, Zhu Hai -Hong, et al. An overview of COVID-19. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2020; 21 (5): 343-60.
24. Prather KA, Wang Chia C, Schooley RT. Reducing Transmission of SARS-CoV-2. *Science*. 2020; 368 (6498): 1422-4.
25. Pereson MJ, Mojsiejczuk I, Martinez AP, Flichman DM, Garcia GH, Di Lello FA. Phylogenetic analyses of SARS-CoV_2 in first few months since its emergence. *J Med Virol*. 2021; 93(3):1722-31.
26. Bohir Barnaby E Young, Siew-wai Fong, Yi-Hao Chan, et al. Effects of a major deletion in the SARS-CoV-2 genome on the severity of infection and the inflammatory response: an observational cohort study. *Lancet*. 2020; 396:603-11.
27. Wu Joseph T, Leung Kathy, Leung Gabriel M. Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modeling study. *Lancet*. 2020; 395: 689-97.
28. Candido Darlan S, Claro Ingra M, Jesus Jaqueline g, Souza Willian M, Moreira Felipe RR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science*. 2020, 369 (6508); 1255-60.
29. Ministério da Saúde (BR). Covid-19. Painel Coronavirus. 2020. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br>

Endereço para correspondência:

Jacqueline Fátima Martins de Almeida Moraes
Unip – Campus Campinas Swift
Avenida Cador Enzo Ferrari, 280 – Swift
Campinas-SP, CEP 13045-770
Brasil

E-mail: jacqueline.moraes@docente.unip.br

Recebido em 1 de outubro de 2020
Aceito em 20 de outubro de 2020