

Boletim Informativo

**Relatório dos resultados parciais referente ao
sequenciamento de nova geração das amostras
de SARS-CoV-2 positivas realizado no Laboratório
Central de Saúde Pública Prof^o Gonçalo Moniz –
LACEN/BA**



SECRETARIA
DA SAÚDE

EDIÇÃO 06 – 16.06.2021

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

O Laboratório Central de Saúde Pública Prof^o Gonçalo Moniz (LACEN/BA), reconhecido como a 3^a maior unidade de vigilância laboratorial do país e classificado na categoria máxima de qualidade pelo Ministério da Saúde, realiza um conjunto de ações transversais junto com os demais sistemas de vigilância em saúde, propiciando conhecimento e investigação diagnóstica de agravos e verificação da qualidade de produtos de interesse para a saúde pública mediante estudo, pesquisa e análises relacionadas aos riscos epidemiológicos, sanitários, ambientais e da saúde do trabalhador, além de coordenar a Rede Estadual de Laboratórios de Saúde Pública – RELSP – na Bahia. Também se dedica à busca de novas metodologias de diagnóstico laboratorial aplicadas a pesquisa de patógenos virais emergentes e reemergentes, incluindo as tecnologia de sequenciamento de nova geração, formação de recursos humanos, capacitação pessoal e inovação em diagnóstico de patógenos emergentes e reemergentes.

Durante o período de 18 de setembro até o dia 21 de maio de 2021, a equipe do LACEN/BA realizou o sequenciamento de 257 genomas completos do SARS-CoV-2, provenientes de pacientes com sintomas de infecção por COVID-19, dos 09 (nove) Núcleos Regionais de Saúde da Bahia: Sul (17,19%), Leste (n=41,41%), Norte (n=5,47%), Sudoeste (n=7,03%), Oeste (2,73%), Nordeste (2,73%), Centro-Norte (4,69%), Centro-Leste (11,72%) e Extremo Sul (7,03%) residentes nos seguintes municípios: Alagoinhas (n=2), Alcobaça (n=1), Amargosa (n=8), Amelia Rodrigues (n=1), Anguera (n=1), Araci (n=1), Barra do Rocha (n=3), Barreiras (n=1), Brumado (n=7), Bom Jesus da Lapa (n=1), Caem (n=2), Camacan (n=2), Camaçari (n=1), Campo Alegre de Lourdes (n=1), Campo Formoso (n=2), Canavieiras (n=1), Candeias (n=2), Cândido Sales (n=1), Canudos (n=1), Casa Nova (n=1), Catu (n=3), Cipó (n=1), Cocos (n=1), Conceição do Almeida (n=1), Conceição do Jacuípe (n=1), Cruz das Almas (n=1), Curaçá (n=1), Dias D'Avila (n=1), Eunápolis (n=1), Euclides da Cunha (n=1), Feira de Santana (n=18), Gandu (n=1), Gongogi (n=1), Guanambi (n=1), Guaratinga (n=1), Ibicaraí (n=2), Ibirataia (n=1), Ilhéus (n=8), Ipiaú (n=2), Ipirá (n=1), Irecê (n=1), Itaberaba (n=1), Itabuna (n=6), Itacaré (n=2), Itamaraju (n=1), Itapetinga (n=2), Itiruçu (n=1), Itororó (n=2), Jacobina (n=2), Jaguaquara (n=1), Jequié (n=1), João Dourado (n=2), Juazeiro (n=3), Lauro de Freitas (n=8), Livramento de Nossa Senhora (n=1), Luís Eduardo Magalhães (n=2), Madre de Deus (n=1), Mairi (n=1), Maragogipe (n=1), Mata de São João (n=1), Morpará (n=1), Mucugê (n=1), Mucuri (n=1), Nazaré (n=3), Paulo Afonso (n=1), Piatã (n=1), Pilão Arcado (n=1), Pindaí (n=1), Pindobaçu (n=1), Ponto Novo (n=1), Porto Seguro (n=6), Prado (n=2), Quixabeira (n=1), Riachão do Jacuípe

(n=1), Ribeira do Lago (n=1), Ribeira do Pombal (n=1), Salvador (n=65), Santa Cruz Cabrália (n=1), Santaluz (n=1), Santo Amaro (n=1), Santo Antônio de Jesus (n=2), Santo Estevão (n=1), São Francisco do Conde (n=1), São Gonçalo dos Campos (n=1), São Sebastião do Passé (n=1), Senhor do Bonfim (n=1), Serrinha (n=1), Serra Preta (n=1), Serrolândia (n=2), Simões Filho (n=2), Taperoá (n=1), Terra Nova (n=1), Teixeira de Freitas (n=2), Uruçuca (n=5), Valença (n=3), Valente (n=1) e Vitória da Conquista (n=2), cujo diagnóstico molecular resultou positivo para o SARS-CoV-2 (**Figura 1B**). Foi também incluída no sequenciamento uma amostra obtida no município de Seabra de um viajante do município de São João de Meriti, do estado do Rio de Janeiro.

Com o intuito de mapear todas as variantes circulantes no estado da Bahia, foram sequenciadas amostras que atenderam os seguintes critérios: suspeitas e/ou contatos de VOC (do inglês *Variants of concern*, variantes de preocupação) e VOI (do inglês *Variants of interest*, variantes de interesse) informados pela vigilância; óbitos; casos graves e com rápida evolução; amostras com carga viral alta; além de pacientes com diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 com histórico de viagem de fora do estado da Bahia. O acompanhamento de casos com e sem histórico de viagem é de fundamental importância para investigar tanto a dispersão de variantes existentes, quanto a introdução de novas variantes.

Os genomas sequenciados, utilizando a tecnologia desenvolvida pela Thermo Fisher Scientific (Ion Genestudio S5 Plus), apresentaram em sua grande maioria cobertura superior a 99% do genoma total.

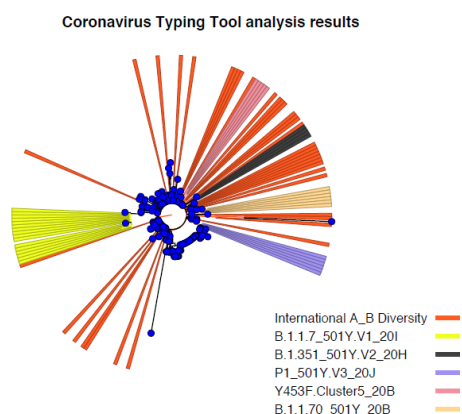
A escolha das amostras para o sequenciamento foi baseada na representatividade de todas as regiões geográficas do estado da Bahia, casos suspeitos de reinfecção, amostras de indivíduos que evoluíram para óbito, contatos de indivíduos portadores de variantes de atenção (VOC) e indivíduos que viajaram para área de circulação das novas variantes com sintomas clínicos característicos, como dificuldade de respirar, muito cansaço, SRAG e/ou pneumonia.

As amostras selecionadas apresentaram valores de CT (*cycle threshold*) que variaram entre 14.36 e 32.98 (média= 27.081).

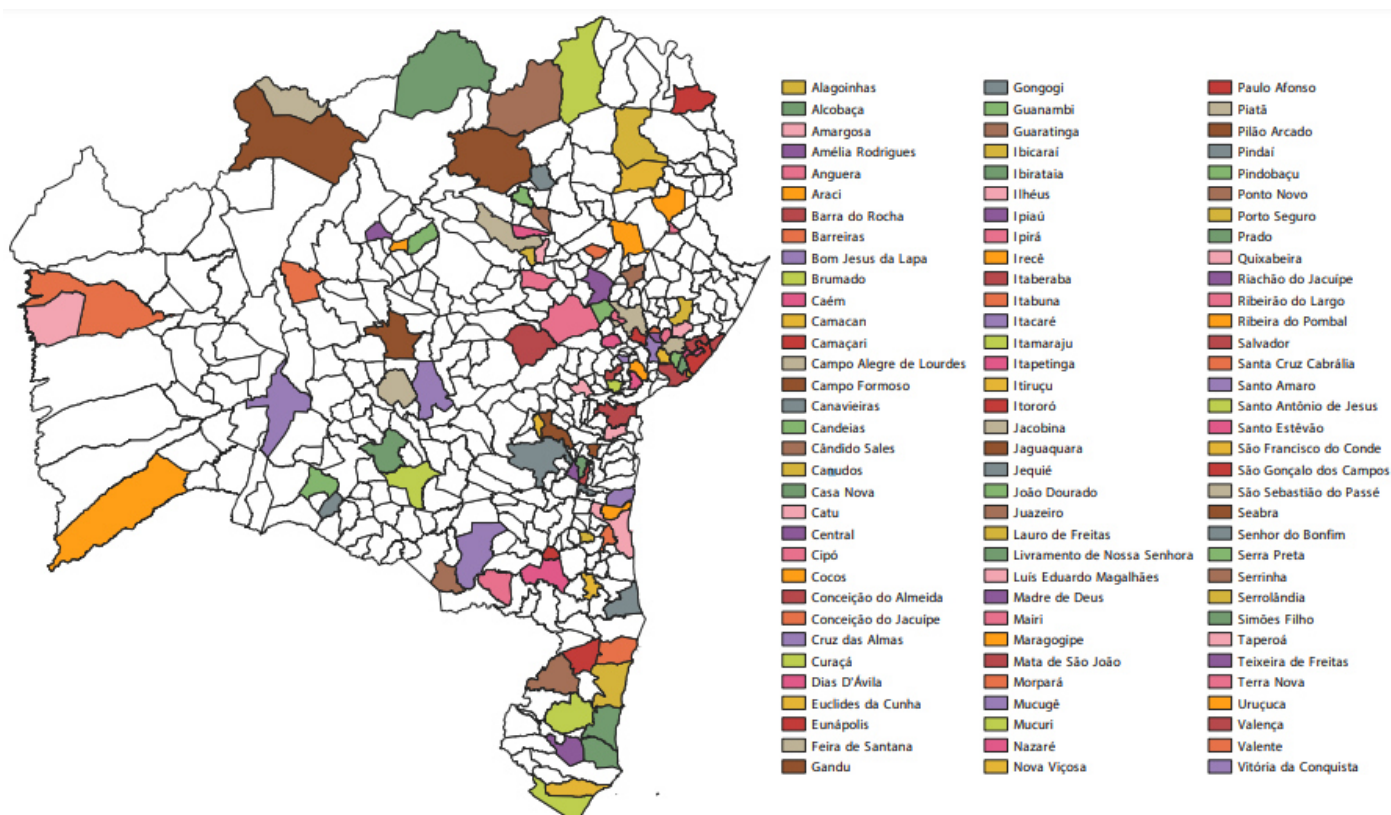
As 257 sequências genômicas do vírus SARS-CoV-2 foram analisadas utilizando o software *Genome Detective - Coronavirus Typing Tool*, disponível online (Cleemput et al., 2020) (**Figura 1**).

Figura 1. A) Reconstrução filogenética do SARS-CoV-2 no estado da Bahia. A) Filogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando sequências genômicas isoladas na Bahia e sequências de referência presentes no banco de dados da ferramenta do Genome Detective-Coronavirus Typing Tool, disponível online (CLEEMPUT et al., 2020); **B)** Mapa do estado da Bahia, destacando os municípios onde foram obtidas e caracterizadas as novas sequências genômicas do SARS-CoV-2.

A



B



A avaliação da linhagem foi realizada utilizando a ferramenta *Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak LINEages* disponível em <https://github.com/hCoV-2019/pangolin>, seguindo a recente classificação dinâmica proposta por Rambaut e colaboradores (Rambaut et al 2020).

Foi identificada a co-circulação de 22 linhagens diferentes do SARS-CoV-2 no estado da Bahia ao longo do tempo, provavelmente vinculadas a múltiplos eventos de importações concomitantes com um alto número de infecções registradas no estado. Interessantemente, os resultados preliminares sugerem que o número de linhagens circulantes mudou com o tempo (**Figura 2**). A sub-linhagem B.1.1.162 foi a primeira identificada em fevereiro, marcando a introdução primária de casos importados da Europa (relacionada ao primeiro caso importado do paciente index no estado da Bahia, uma mulher residente no município de Feira de Santana que havia voltado da Itália). Desde então, sub-linhagens adicionais foram identificadas no estado, sendo possivelmente relacionadas a múltiplos eventos de importação que ocorreram nesse período. Em janeiro 2021 também foram detectadas no estado as novas variantes do SARS-CoV-2 recentemente identificadas no Brasil, sendo elas a variante P.1 e P.2 isoladas pela primeira vez no Norte (Manaus, Amazonas) e no Sudeste do país (Rio de Janeiro). Em fevereiro de 2021 também foi detectada a linhagem peruana C.14, marcando a introdução da mesma através de um viajante por meio de um navio e a linhagem B.1.1.7 ou variante do Reino Unido ou britânica, detectada no Reino Unido pela primeira vez no início de dezembro de 2020. Assim, no comparativo mês a mês, vemos o crescimento da diversidade de cepas detectadas no estado (8), chegando ao maior número desde o início da pandemia. Entretanto, nos meses de fevereiro a maio pode-se notar o estabelecimento da cepa P.1 entre as amostras analisadas.

Nos genomas analisados, identificamos um caso de reinfeção de um paciente, sexo masculino, residente no município de Salvador, que teve a primeira infecção de COVID-19 em julho de 2020, variante B.1.1.33 e a segunda infecção em novembro de 2020 pela variante B.1.1.28.

No sequenciamento realizado em fevereiro de 2021, 09 (nove) amostras de indivíduos que evoluíram para óbito foram sequenciadas, das quais detectamos as linhagens B.1.1.28 (n=2), B.1.1.33 (n=1), B.1.1.143 (n=1) e as variantes P1 (n=3) e P2 (n=2).

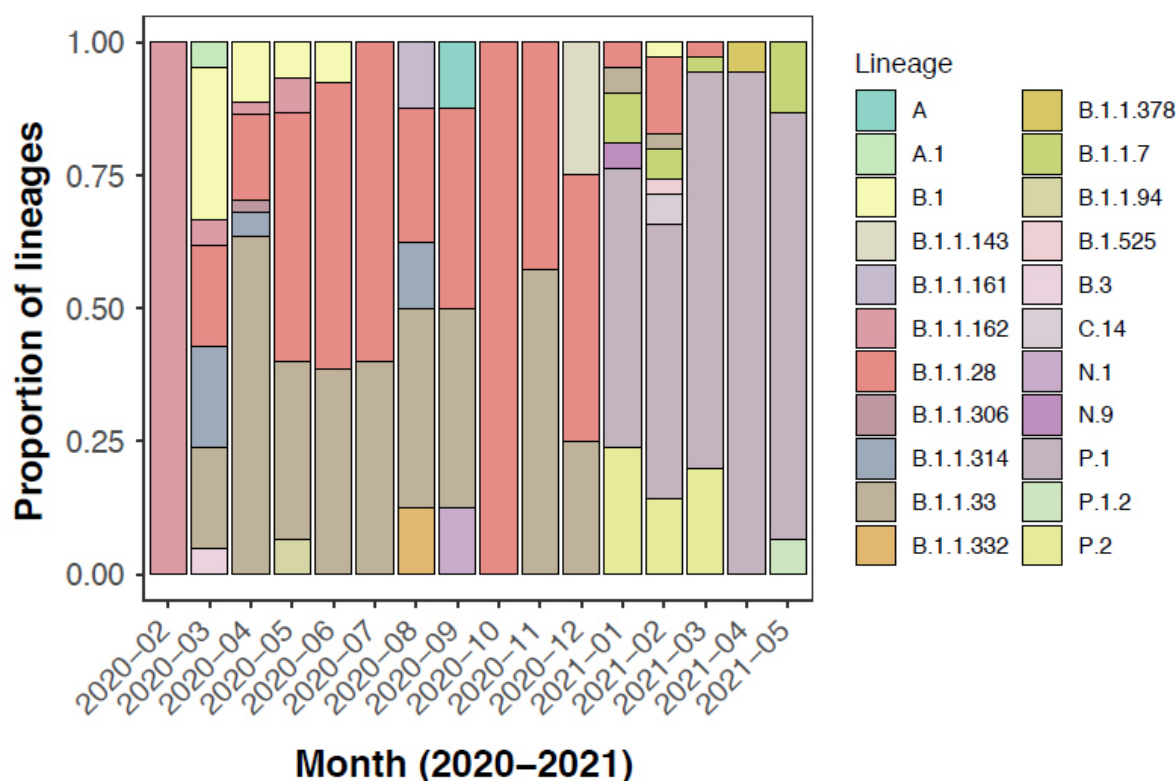
No mês de março foram sequenciadas 32 (trinta e duas) amostras, das quais 62,5% (20/32) foram identificadas como a variante P1, 21,9% (7/32) P2, 9,4% (3/32) B.1.17 e 6,2% (2/32) da linhagem B.1.1.28. Destas, 10 (dez) amostras foram provenientes de casos de óbitos, sendo detectadas a linhagem B.1.1.28 (n=1), além das variantes B.1.1.7 (n=1), P2 (n=1) e P1 (n=7).

Em abril, do total de 49 (quarenta e nove) amostras sequenciadas, 49,1% (24/49) foram identificadas como P1, 4,1% (2/49) B.1.1.7, 8,2% (4/49) P2, 2,0% (1/49) N9, classificadas como variantes de interesse ou atenção (VOI/VOC). Além disso, foram detectadas as linhagens A em 2,0% (1/49), B.1.1.28 18,4% (9/49), B.1.1.33 10,2% (5/49), B.1.1.332 2,0% (1/49), B.1.1.378 2,0% (1/49) e em 2,0% (1/49) N1.

Ainda sobre estas amostras, 33 foram provenientes de indivíduos que evoluíram para óbito, sendo 60,6% (20/33) da variante P1, 18,2% (6/33) P2, 3,0% (1/33) da linhagem B.1.1.143, 9,1% (3/33) B.1.1.28, 3,0% (1/33) B.1.1.33 e 6,1% (2/33) da variante B.1.1.7.

Em maio, foram sequenciadas 32 (trinta e duas) amostras. Destas, 12,5% (4/32) foram identificadas como B.1.1.28, 6,3% (2/32) B.1.1.7, 78,1% (25/32) P1 e 3,1% (1/32) P1.2. Entre as amostras sequenciadas, 10 (dez) foram de indivíduos que evoluíram para óbito, sendo que 80% (8/10) foram identificadas como a variante P1. Neste mês, identificamos a circulação da variante P1.2 no município de Piatã, que foi descoberta inicialmente no estado do Rio de Janeiro e detectada posteriormente no estado de São Paulo.

Figura 2. Frequência e distribuição das linhagens e sub-linhagens do SARS-CoV-2 no estado da Bahia ao longo do tempo.



Esses dados preliminares sugerem que a mobilidade humana representa um fator crucial para a dispersão do SARS-CoV-2 e das novas variantes, portanto distanciamento social e medida de restrições ainda continuam sendo essenciais para tentarmos minimizar a circulação deste patógeno no Brasil. Mais esforços de sequenciamento são necessários para geração de novos dados genômicos que permitirão realizar inferências filogenéticas mais detalhadas sobre a dispersão do vírus no estado.

REFERÊNCIAS

CLEEMPUT, S. et al. "Genome Detective Coronavirus Typing Tool for rapid identification and characterization of novel coronavirus genomes." Bioinformatics, 2020.

RAMBAUT, A. et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. Nat Microbiol. 2020 Nov;5(11):1403-1407. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5. Epub 2020 Jul 15. PMID: 32669681.

Editorial Boletim Informativo LACEN/BA – EDIÇÃO 06 – 16.06.2021

Superintendência de Vigilância e Proteção da Saúde (SUVISA)

Rívia Barros

Laboratório Central de Saúde Pública Profº Gonçalo Moniz (LACEN/BA)

Arabela Leal e Silva de Mello

Coordenação de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica (CLAVEP)

Coordenadora Técnica:

Felicidade Mota Pereira

Equipe Técnica:

Vanessa Brandão Nardy

Luciana Reboredo de Oliveira da Silva

Stephane Fraga de Oliveira Tosta

Jaqueline Gomes Lima

Marcela Kelly Astete Gomez

Análise dos dados:

Marta Giovanetti

Vagner Fonseca

Luiz Carlos Junior Alcantara

Edição:

Mariana Nossa Aragão