

Boletim Informativo

VIGILÂNCIA GENÔMICA – ARBOVIROSES

Edição nº 01/2024

LOCEN/BA
Laboratório Central de Saúde Pública



GOVERNO DO ESTADO
BAHIA

SECRETARIA
DA SAÚDE

Relatório da vigilância genômica, dos resultados parciais referente ao sequenciamento de Nova Geração das amostras de dengue 1 e 2, chikungunya e oropouche realizado no Laboratório Central de Saúde Pública Prof^o Gonçalo Moniz – LACEN/BA

Vigilância Genômica

O Boletim atual visa apresentar informações sobre a vigilância genômica dos arbovírus circulantes e co-circulantes no estado da Bahia. A prevalência e expansão desses vírus estão aumentando globalmente tornando-se um problema de saúde pública, que requer monitoramento constante, uma vez que causam uma variedade de sintomas, desde febre leve até complicações mais sérias, sendo algumas delas potencialmente fatais (Wallau G, 2023). Essa situação resulta em uma considerável morbidade e mortalidade tanto no curto quanto em longo prazo. O sequenciamento genético de nova geração tem sido uma ferramenta essencial para gerar dados genômicos, impulsionar a resposta laboratorial e proporcionar melhor compreensão dos padrões evolutivos e de dispersão de novos genótipos, melhorando o monitoramento realizado para determinar padrões de circulação, gerando informações para o desenvolvimento de vacinas e possível impacto na saúde pública.

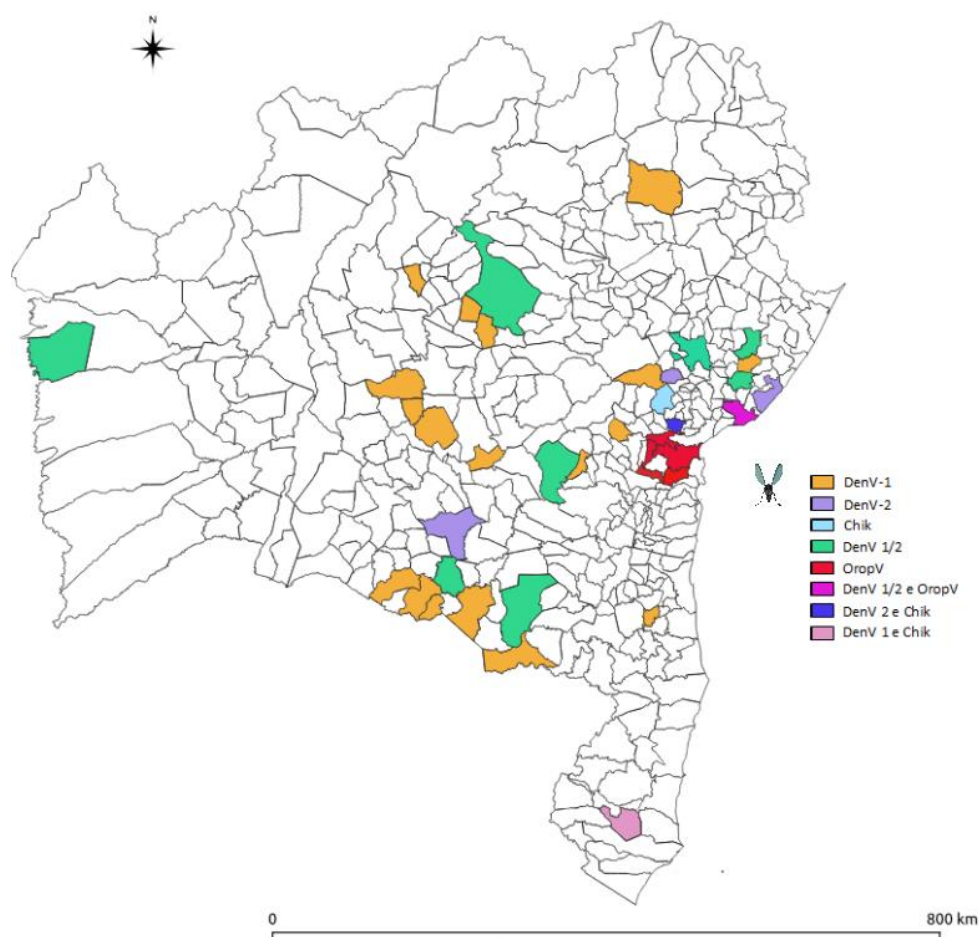
Esses dados gerados sobre as informações genéticas dos arbovírus são compartilhados oportunamente através de uma ferramenta a EpiArbo que foi implementada dentro da plataforma internacional de dados genômicos *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID), onde ficam disponíveis para cientistas e pesquisadores de todo o mundo.

Monitoramento Genômico dos arbovírus

Durante os primeiros três meses de 2024, o Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia (LACEN/BA) realizou o sequenciamento de **135 genomas completos de arbovírus**. Dentre estes, 79 foram do vírus da dengue, sendo 38 do sorotipo 1 e 41 do sorotipo 2, 15 do vírus da chikungunya (CHIKV) e 32 do vírus Oropouche (OROV). Nove amostras não apresentaram número suficiente de leituras para a designação dos genótipos.

Essas amostras foram coletadas em trinta e nove municípios pertencentes a oito de nove Núcleos Regionais de Saúde existentes na Bahia: Sul, Leste, Sudoeste, Oeste, Nordeste, Centro-Norte, Centro-Leste, Extremo Sul (**Figura 1**).

Figura 1. Municípios da Bahia com sequências genômicas dos arbovírus: DENV1, DENV2, CHIKV e OROV durante os primeiros três meses de 2024.



Fonte: LACEN/BA.

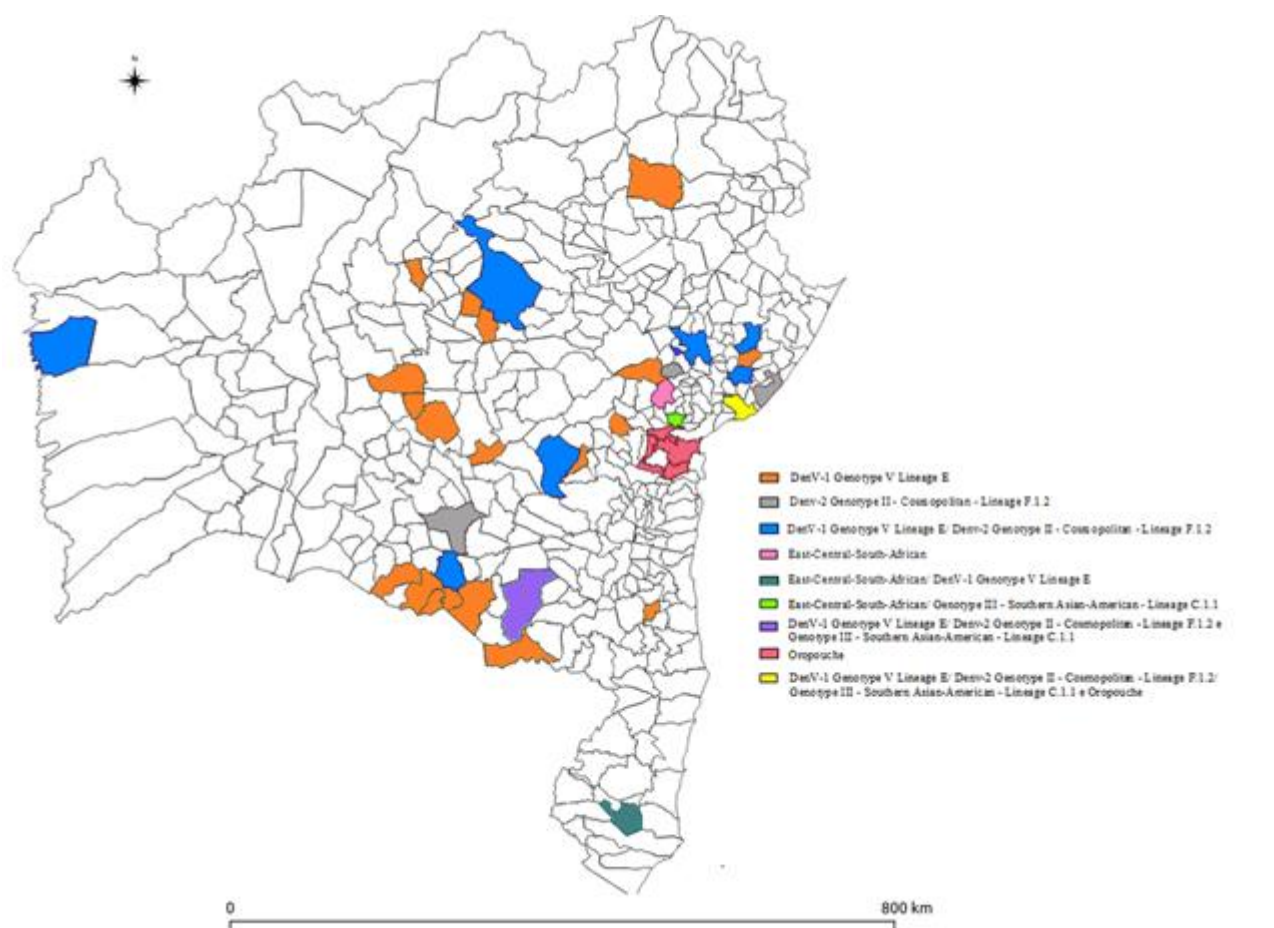
As amostras sequenciadas foram selecionadas, seguindo os seguintes critérios: amostras com alta carga viral (que apresentem *cycle threshold* - CT <30), casos que evoluíram para óbitos, pacientes que apresentaram sinais/sintomas neurológicos: amostra de pacientes que apresentaram clínica diferenciada (sinais/sintomas de gravidade), pacientes em período gestacional. Essa seleção seguiu os critérios estabelecidos no ofício nº16/2023/CGLAB/DAEVS/SVSA/MS.

As sequências genômicas obtidas durante as semanas epidemiológicas 1 a 12 de 2024, foram sequenciadas com tecnologia de sequenciamento de nova geração na plataforma MiSeq da Illumina®. Os dados brutos do sequenciamento foram processados utilizando o *software Genome Detective*

(<https://www.genomedetective.com/>), que realiza a montagem dos genomas e a identificação dos genótipos e linhagens virais (Fonseca et al.,2019; Vilsker et al.,2019), apresentando em sua maioria cobertura superior a 94% do genoma total.

Dos genótipos circulantes de CHIKV 100% foram classificadas como ECSA (East-Central-South-African) para as amostras de DENV-1 foram encontrados 100% do genótipo V, linhagem E. Enquanto para o DENV-2, 92,7% das amostras foram classificadas como genótipo II - Cosmopolitan - linhagem F.1.2 e 7,3% como genótipo III linhagem C.1.1. Este último genótipo também é conhecido como Sudeste Asiático Americano, que circula no Brasil desde a sua introdução no final da década de 80 (**Figura 2**).

Figura 2. Distribuição dos genótipos de arbovírus (DENV1, DENV2 e CHICK) e do vírus do oropouche encontrados nos municípios da Bahia sequenciados no período de janeiro a março de 2024.



Fonte: LACEN/BA.

Com o objetivo de investigar mais detalhadamente a epidemiologia molecular das amostras sequenciadas de diferentes municípios do Estado da Bahia, as amostras foram alinhadas com um conjunto de dados representativos de referência utilizando o software MAFFT (Katoh et al, 2019). Após o alinhamento, uma árvore filogenética de máxima verossimilhança foi reconstruída com 1000

replicações, selecionando o modelo evolutivo GTR para inferir as relações evolutivas entre os genomas obtidos e o conjunto de dados de genomas de referência usando o software IQTREE (Minh et al, 2020).

Tabela 1. Municípios que tiveram ao menos um genoma sequenciado e os respectivos vírus (CHIKV, DENV 1, DENV 2 e OROV) e genótipos encontrados.

MUNICÍPIO DE RESIDÊNCIA	VÍRUS	GENÓTIPO
Alagoinhas	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
	DENV_1	Genotype V Lineage E
Bonito	DENV_1	Genotype V Lineage E
Brejões	DENV_1	Genotype V Lineage E
Brumado	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
Cafarnaum	DENV_1	Genotype V Lineage E
Camaçari	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
Castro Alves	CHIKV	East-Central-South-African
Catu	DENV_1	Genotype V Lineage E
Condeúba	DENV_1	Genotype V Lineage E
Cordeiro	DENV_1	Genotype V Lineage E
Encruzilhada	DENV_1	Genotype V Lineage E
Feira de Santana*	DENV_1	Genotype V Lineage E
	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
Ibicoara	DENV_1	Genotype V Lineage E
Ibitiara	DENV_1	Genotype V Lineage E
Jacaraci	DENV_1	Genotype V Lineage E
Jussari	DENV_1	Genotype V Lineage E
Laje	OROV	
Lajedo do Tabocal	DENV_1	Genotype V Lineage E
Luis Eduardo Magalhães	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
	DENV_1	Genotype V Lineage E
Maracás	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
	DENV_1	Genotype V Lineage E
Monte Santo	DENV_1	Genotype V Lineage E
Morro do Chapéu	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
	DENV_1	Genotype V Lineage E
Mutuípe	OROV	
Novo Horizonte	DENV_1	Genotype V Lineage E
Piatã	DENV_1	Genotype V Lineage E
Piripa	DENV_1	Genotype V Lineage E
Presidente Jânio Quadros*	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
	DENV_1	Genotype V Lineage E
Rafael Jambeiro	DENV_1	Genotype V Lineage E
Salvador	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
	DENV_1	Genotype III - Southern Asian-American - Lineage C.1.1
	OROV	Genotype V Lineage E
Santo Antônio de Jesus	CHIKV	East-Central-South-African
	DENV_2	Genotype III - Southern Asian-American - Lineage C.1.1
Santo Estevão	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
São Sebastião do Passé	CHIKV	East-Central-South-African
	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2
Taperoá	OROV	
Teixeira de Freitas	CHIKV	East-Central-South-African
	DENV_1	Genotype V Lineage E
Teolândia	OROV	
Tremedal	DENV_1	Genotype V Lineage E
Uibaí	DENV_1	Genotype V Lineage E
Valença	OROV	
Vitória da Conquista	DENV_1	Genotype V Lineage E
	DENV_2	Genotype II - Cosmopolitan - Lineage F.1.2 Genotype III - Southern Asian-American - Lineage C.1.1

*Municípios onde foram encontrados pacientes com coinfeção por DENV1 e DENV2.

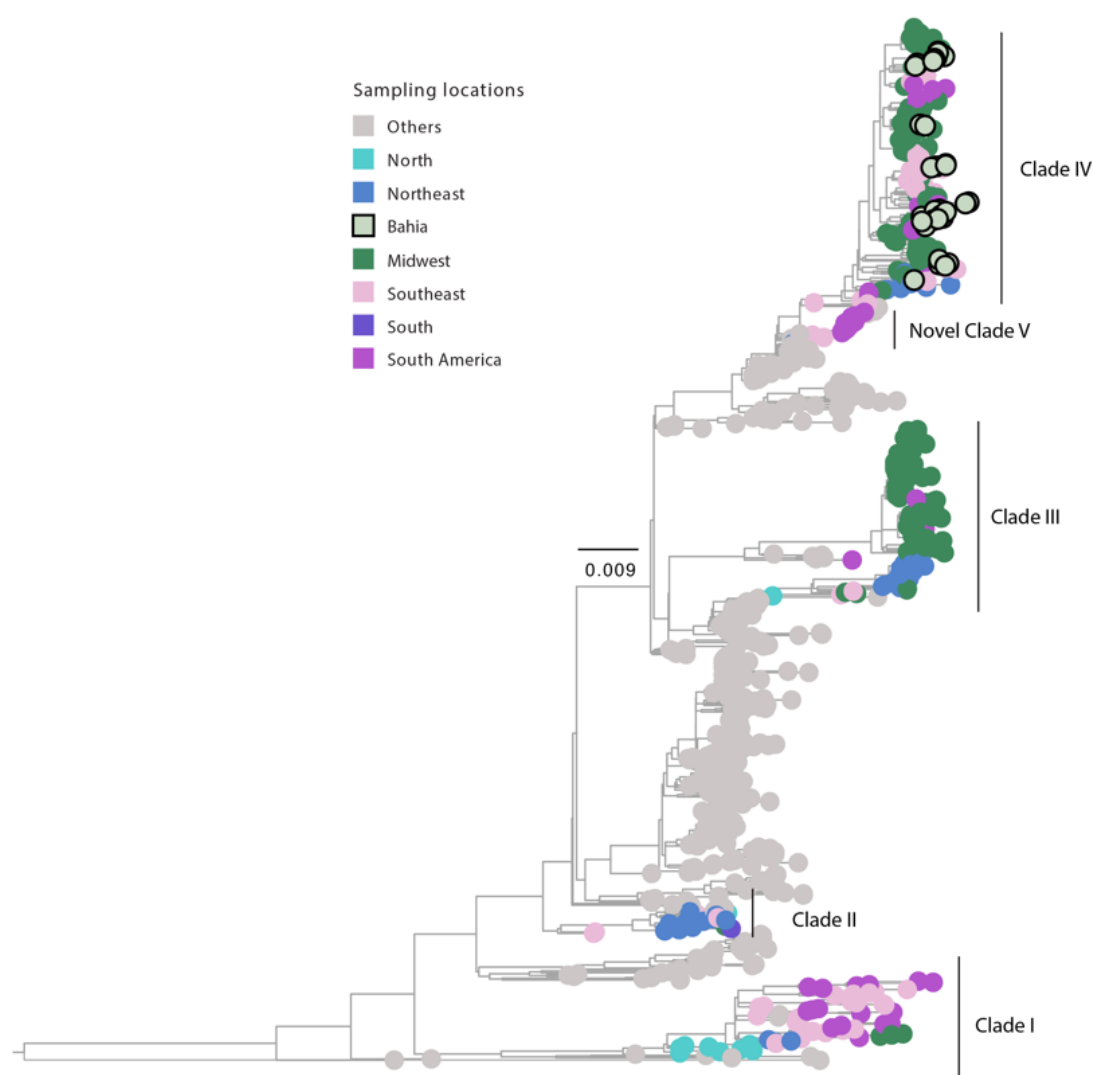
Fonte: LACEN/BA.

O LACEN/BA continua monitorando e divulgando os resultados da diversidade genética viral dos arbovírus que circulam no estado, obtidos por sequenciamento genético em amostras que atendem os critérios de elegibilidade para a metodologia. Ampliando a cada rotina o número de municípios sequenciados.

Análise Filogenética das arboviroses

DENV-1 (*Genotype V*)

Figura 3. Árvore de Máxima Verossimilhança contendo os 41 genomas de DENV1, genótipo V, obtidos durante a atividade de vigilância genômica do LACEN-BA. Os círculos representam os isolados sequenciados de acordo com o local de coleta (conforme a legenda de cores). Árvore filogenética das 41 sequências de DENV-1 (*Genotype V*) utilizando *Maximum likelihood*.

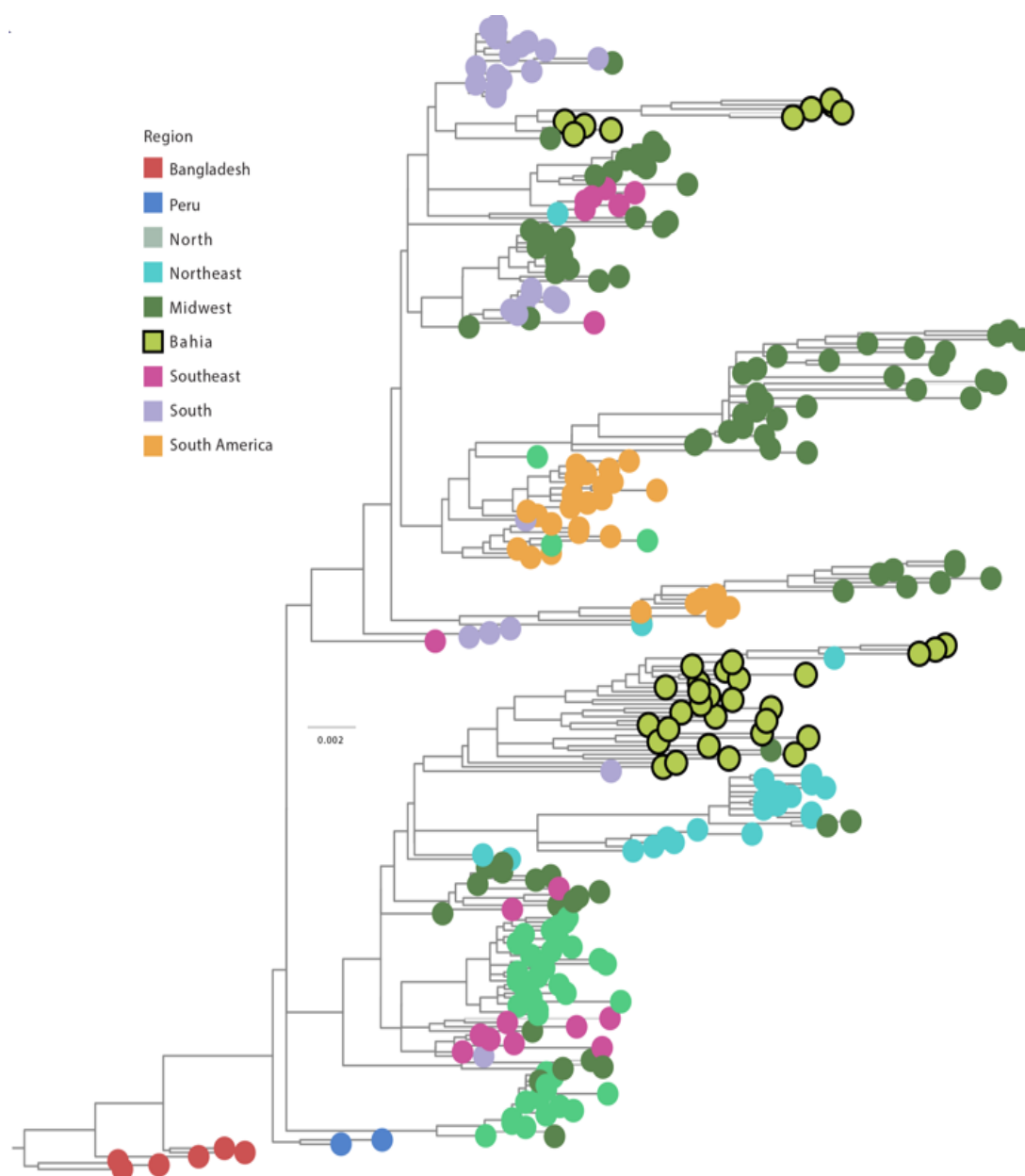


Fonte: LACEN/BA.

Análises preliminares mostraram que as sequências de DENV-1 do estado da Bahia pertencem ao genótipo V e estão agrupadas no clado IV, descrito por Adelino e colaboradores em 2021. Essas sequências estão intimamente relacionadas a outros isolados do Paraguai e das regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil.

DENV-2 (Genotype II - Cosmopolitan)

Figura 4. Árvore de Máxima Verossimilhança contendo os 38 genomas de DENV-II, genótipo Cosmopolita, obtidos durante a atividade de vigilância genômica na Bahia. Os círculos representam os isolados sequenciados de acordo com o local de coleta (conforme a legenda de cores).

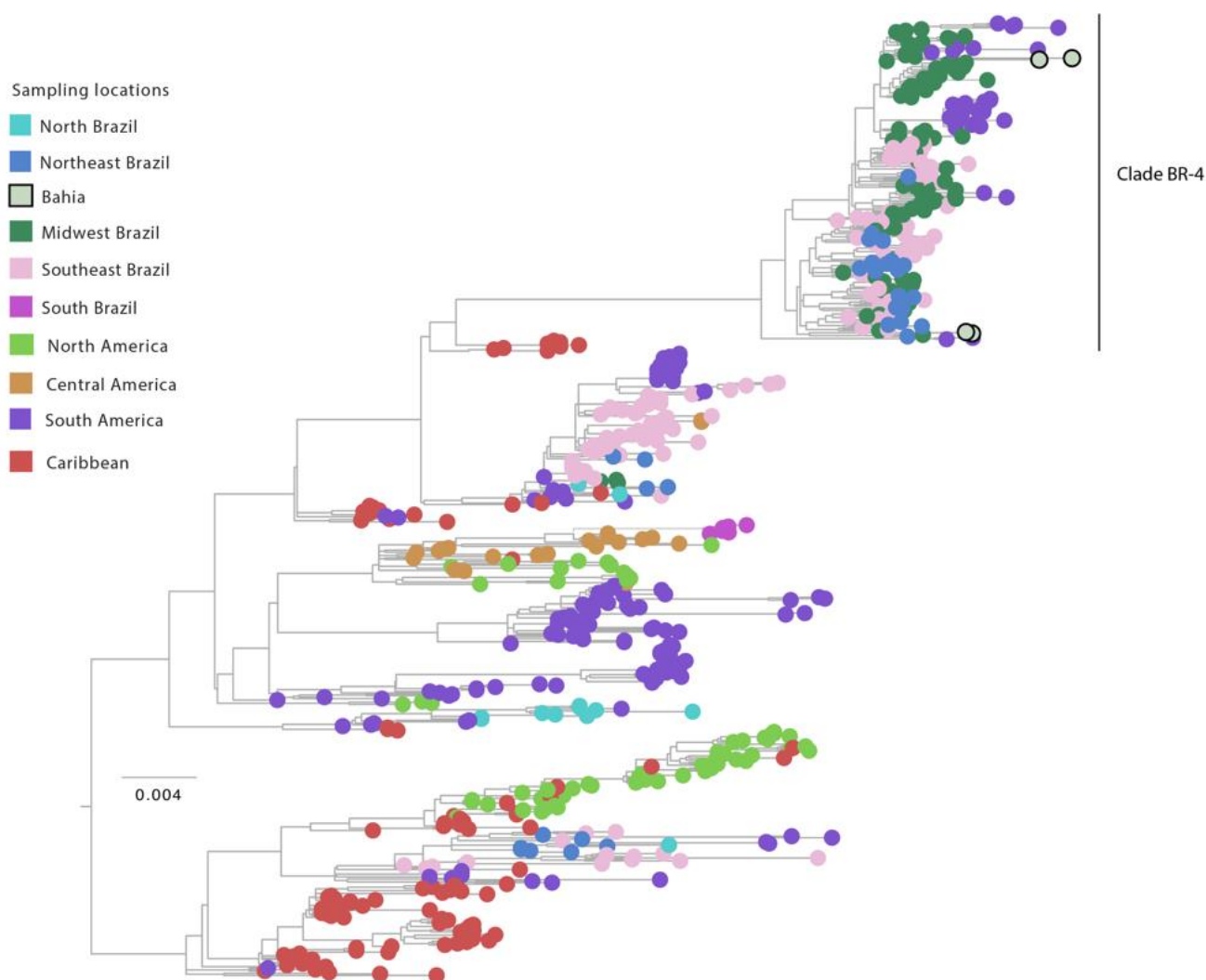


Fonte: LACEN/BA.

Análises preliminares mostraram que as sequências de DENV-2 do estado da Bahia que pertencem ao genótipo *Cosmopolitan*, agrupam-se em dois principais grupos: um grupo com genomas dos estados do Mato Grosso do Sul e outro com sequências do estado do Paraná. Esses resultados indicam possivelmente múltiplos eventos de introdução do genótipo no estado da Bahia.

DENV-2 (Genotype III – Southern Asian-American)

Figura 5. Árvore de Máxima Verossimilhança contendo os 3 genomas de DENV-II, genótipo Sudeste Asiático-Americano, obtidos durante a atividade de vigilância genômica na Bahia. Os círculos representam os isolados sequenciados de acordo com o local de coleta (conforme a legenda de cores).

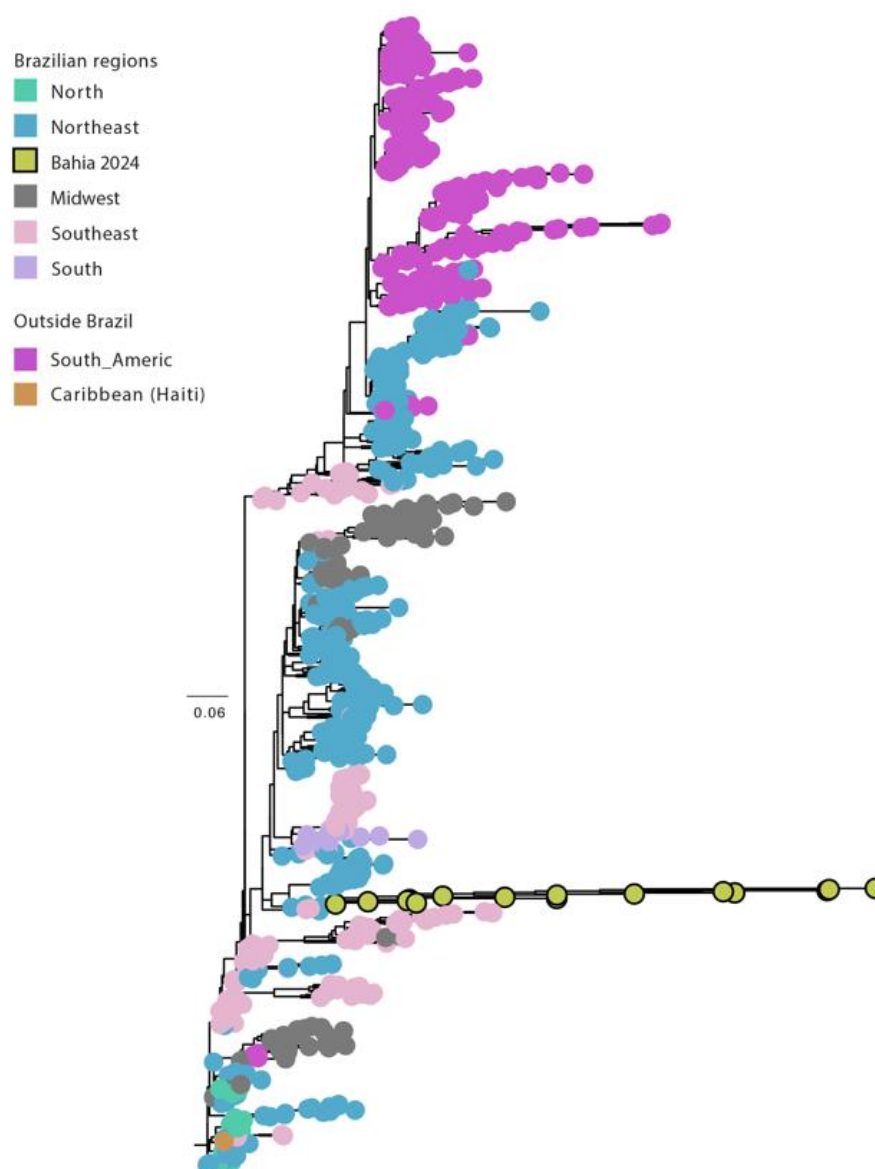


Fonte: LACEN/BA.

Análises preliminares mostraram que as sequências de DENV-2 do estado da Bahia pertencem ao genótipo III Sudeste Asiático-Americano e se agrupam no clado BR-4, descrito por Adelino e colaboradores em 2021, o qual inclui amostras do Centro-Oeste, Nordeste, Sudeste do país e do Paraguai.

CHIKV (ECSA - East-Central-South-African)

Figura 6. Reconstrução filogenética contendo os 15 genomas gerados de CHIKV obtidos durante a atividade de vigilância genômica na BA. Os círculos representam os isolados sequenciados de acordo o local de coleta (conforme legenda de cores).

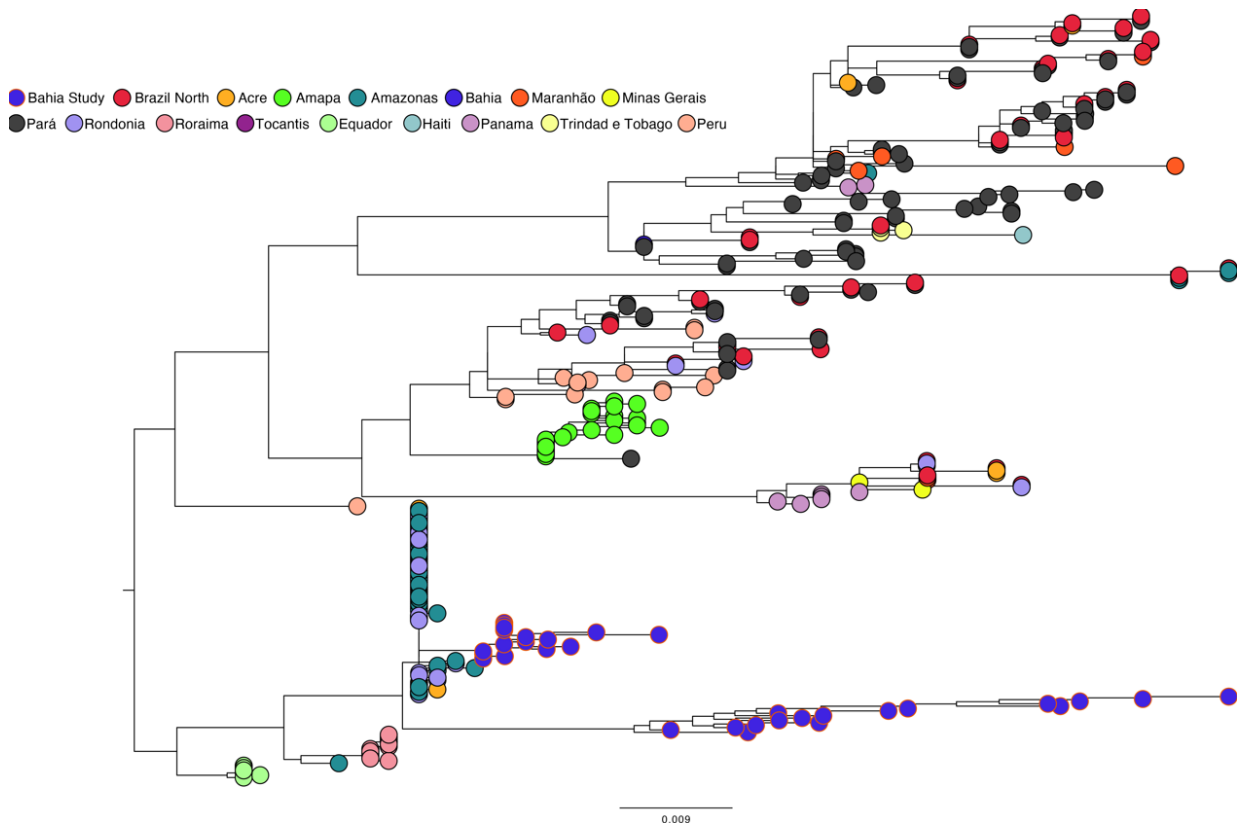


Fonte: LACEN/BA.

Nessa análise a árvore filogenética mostrou que os novos isolados dos municípios da Bahia encontraram-se dispersos em 1 novo clado, sendo indicativo uma persistência do vírus no nordeste brasileiro.

OROPOUCHE

Figura 6. A Reconstrução filogenética contendo os 32 genomas gerados de OROV obtidos durante a atividade de vigilância genômica na BA. Os círculos representam os isolados sequenciados de acordo o local de coleta (conforme legenda de cores).



Fonte: LACEN/BA.

Análises preliminares mostraram que as sequências de OROV do estado da Bahia pertencem a dois clados distintos: o primeiro agrupa-se com as sequências do norte do país, enquanto o segundo apresenta um agrupamento isolado, o que pode indicar uma transmissão local (autóctone).

O comportamento humano representa um fator crucial para evitar a circulação dos arbovírus e prevenir doenças e seus agravos, incluindo a morte. Portanto é essencial eliminar qualquer recipiente que possa acumular água em residências e quintais, pois esses recipientes podem servir como criadouro para o mosquito *Aedes aegypti* e *Orthobunyavirus*, que transmitem essas doenças. Essas medidas ainda continuam sendo fundamentais para tentarmos minimizar a circulação destes arbovírus.

Além disso é essencial manter uma vigilância genômica constante para acompanhar a evolução dos arbovírus, explorar o avanço na descoberta de novas linhagens e genótipos, e compreender o comportamento da doença em determinados períodos, permitindo a tomada de medidas de forma ágil e adequada.

REFERÊNCIAS

Kearse M, et al. *Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data*. Bioinformatics. 2012 Jun 15;28(12):1647-9. doi: 10.1093/bioinformatics/bts199. Epub 2012 Apr 27. PMID: 22543367; PMCID: PMC3371832.

Katoh K, et al. “MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization” Briefings in Bioinformatics, Volume 20, Issue 4, Pages 1160–1166 2019.

Minh BQ, et al. “IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era.” Mol. Biol. Evol., 37:1530-1534., 2020.

Wallau G. Arbovirus researchers unite: expanding genomic surveillance for an urgent global need. The Lancet Global Health. August 1, 2023. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(23\)00325-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(23)00325-X)

Vilsker M, Moosa Y, Nooij S, Fonseca V, Ghysens Y, Dumon K, Pauwels R, Alcantara L, Eynden E, Vandamme A, Deforche K, Oliveira T; Genome Detective: An Automated System for Virus Identification from High-throughput sequencing data Bioinformatics, bty695, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty695>.

Fonseca V, Libin PJK, Theys K, Faria NR, Nunes MRT, et al. (2019) A computational method for the identification of Dengue, Zika and Chikungunya virus species and genotypes. PLOS Neglected Tropical Diseases 13(5): e0007231. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007231>

Yu G (2022). Data Integration, Manipulation and Visualization of Phylogenetic Treess, 1st edition edition. Chapman and Hall/CRC. doi:10.1201/9781003279242, <https://www.amazon.com/Integration-Manipulation-Visualization-Phylogenetic-Computational-ebook/dp/B0B5NLZR1Z/>.

Editorial Boletim Informativo Vigilância Genômica - Arboviroses - LACEN/BA

EDIÇÃO nº 01/2024 – 31.07.2024

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
Marcela Kelly Astete Gómez

Análise dos dados e elaboração:
Felicidade Mota Pereira
Vanessa Brandão Nardy
Marcela Kelly Astete Gómez
Vagner de Souza Fonseca

Edição:
Mariana Nossa Aragão