

NOTA TÉCNICA

Vigilância Genômica de arbovírus de circulação no estado do Ceará.

Nº 03 | 13/05/2024



CEARÁ
GOVERNO DO ESTADO
SECRETARIA DA SAÚDE

APRESENTAÇÃO

O Laboratório Central de Saúde Pública - LACEN/CE; Secretaria de Vigilância em Saúde – SEVIG; Coordenadoria de Vigilância Epidemiológica e Prevenção em Saúde (COVEP), vem atualizar as informações sobre a vigilância genômica de arbovírus de circulação no estado do Ceará, para subsidiar ações de vigilância, prevenção e controle dessas doenças.

O monitoramento genômicos sistemático dos casos elegíveis de arboviroses é realizado por meio do sequenciamento de nova geração, atuando em conjunto com ferramentas contidas no Plano Estadual Integrado em Saúde para Enfrentamento das Arboviroses.

O sequenciamento genético de nova geração tem sido uma ferramenta essencial para gerar dados genômicos, impulsionar a resposta laboratorial e proporcionar melhor entendimento dos padrões evolutivos e de dispersão de novos sorotipos e/ou genótipos de dengue chikungunya e Zika, melhorando o monitoramento realizado para determinar padrões de circulação e possível impacto na saúde pública.

As informações apresentadas nesta nota técnica são referentes ao sequenciamento realizado em 10/05/2024, de amostras de dengue, registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan Net e Sinan On-line) e de dados do Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) no período de 01 de janeiro a 23 de abril de 2024.

Governador do Estado do Ceará
Elmano de Freitas da Costa

Secretária da Saúde do Ceará
Tânia Maria Silva Coelho

Secretário Executivo de Vigilância em Saúde e Regulação
Antonio Silva Lima Neto

Diretor do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/CE)
Ítalo José Mesquita Cavalcante

Coordenadora de Vigilância Epidemiológica e Prevenção em Saúde
Ana Maria Peixoto Cabral Maia

Elaboração
Shirlene Telmos Silva de Lima

Colaboração
Maria Gabriela Rodrigues da Costa
Larissa Maria Façanha Duarte
Leda Maria Simões Mello
Carlos Garcia Filho
Kiliana Nogueira Farias da Escóssia

Revisão
Ana Carolina Barjud Marques Máximo
Karene Ferreira Cavalcante
Rosiane Marcelino Lobo Fernandes



INTRODUÇÃO

A dengue é uma infecção viral sistêmica causada pelo vírus dengue (DENV), um arbovírus do gênero *flavivirus*, família *flaviviridae*, que apresenta características antigênicas distintas que o diferem em quatro sorotipos antigenicamente diferentes (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4) (LINDENBACH, THIEL & RICE, 2007) contendo grupos genéticos (genótipos) dentro de cada sorotipo (VASILAKIS; WEAVER, 2008).

Como na maioria dos vírus de RNA, DENV apresenta considerável diversidade genética. Mutações, recombinações, susceptibilidade do hospedeiro e fluxo gênico dos sorotipos do DENV têm causado maior predisposição dos mesmos a essa diversidade (DOLAN et al, 2021). A imunidade vitalícia desenvolvida após a infecção por um dos quatro tipos de vírus é específica do tipo, e a progressão para doença mais grave é frequentemente, mas não exclusivamente, associada à infecção secundária por tipos heterólogos. Em razão da imunidade heterogênea, infecções secundárias por diferentes sorotipos e genótipos são possíveis e relativamente comuns (BHATT et al., 2013).

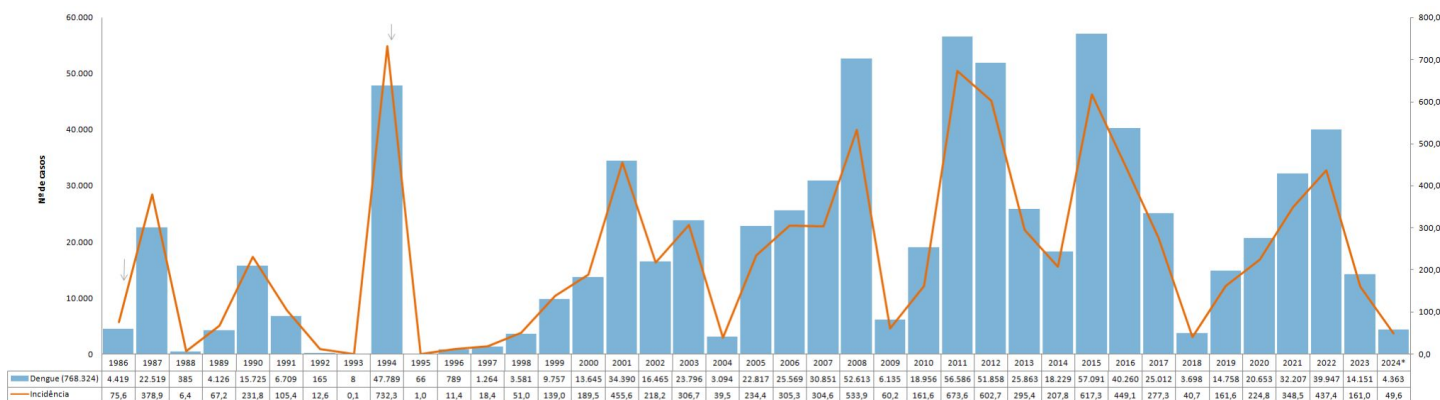
Possui alto impacto na saúde pública do Brasil e de outros países tropicais e subtropicais em função de sua ampla distribuição e de sua capacidade em causar significativa morbidade e mortalidade em humanos (LINDENBACH, THIEL & RICE, 2007), daí a importância do monitoramento e acompanhamento do surgimento de novos sorotipos e genótipos.

Nesse contínuo monitoramento, o LACEN/CE realizou, de 01 janeiro a 23 de abril de 2024, 7.629 testes de biologia molecular RT-qPCR para arbovírus DENV, CHIKV e ZIKV, utilizando o kit *IBMP Biomol ZDC – Zika, Dengue e Chikungunya* e a técnica “*in house*” (Lanciotti) quando necessário. Deste total de testes realizados, não foi detectado nenhum caso positivo para chikungunya e nem Zika e, dos 2.543 testes de RT-qPCR realizados para dengue, obtivemos 18 resultados detectáveis para o sorotipo DENV1 e 16 para o sorotipo DENV2. Após sequenciamento realizado nas amostras elegíveis, o LACEN/CE vem informar ter identificado, pela primeira vez no Ceará, o genótipo II, denominado de Cosmopolitan, do sorotipo DENV2, que ainda não havia circulado no estado. Os genomas encontrados circulando no Ceará, até então, eram DENV1 Genótipo V e DENV2 Genótipo III - Southern Asian-American, sendo esse último o genótipo de maior circulação no Brasil.

Para atender às demandas governamentais, o LACEN-CE vem por meio deste documento apresentar seus resultados mais recentes nesta seara, obtidos de amostras colhidas entre as semanas epidemiológicas (SE) 09 a 17 de 2024.

CENÁRIO EPIDEMIOLÓGICO DA DENGUE

A figura 1 registra os casos de dengue confirmados no Ceará desde 1986, quando foi isolado o sorotipo DENV1. Nesses últimos 38 anos a dengue se manifestou de forma endêmica com o registro de sete epidemias (1987, 1994, 2001, 2008, 2011, 2012 e 2015). Destacam-se as epidemias de 1994, pela confirmação dos primeiros casos e óbitos por dengue hemorrágica, 2008 com maior número de casos graves e 2015 pelo maior número de casos confirmados. A detecção do sorotipo DENV2 ocorreu pela primeira vez no ano de 1994, do DENV3 em 2001 e o DENV4 no ano de 2011. No período de 1986 a 2024* foram confirmados 772.387 casos de dengue.



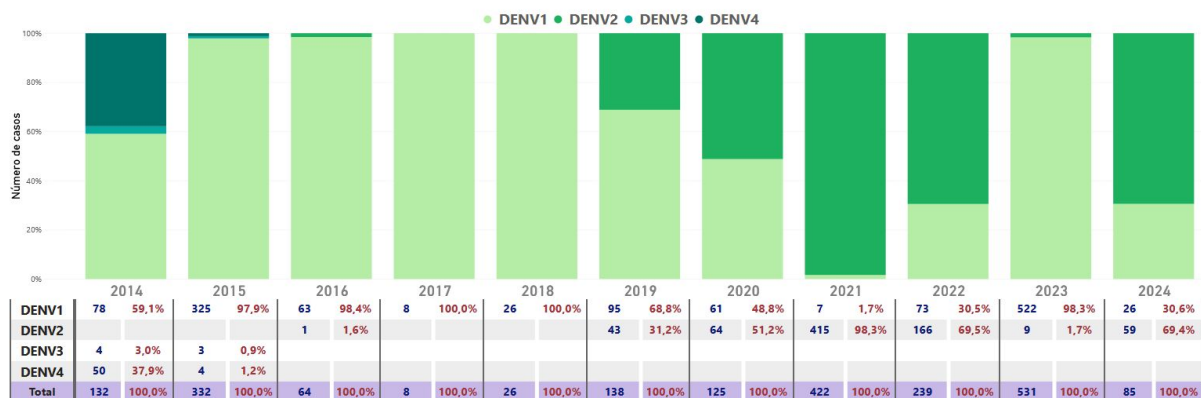
Fonte: SESA/COVEP/CEVEP/Sinan. *Dados exportados em 13/05/2024, sujeitos a alterações.

Figura 1. Casos confirmados, taxa de incidência acumulada de dengue e ano de introdução dos sorotipos (DENV) no Ceará, 1986 a 2024*

Em 2024, até a semana epidemiológica (SE) 20, foram notificados no Ceará 27.375 casos de dengue. A taxa de incidência dos casos prováveis é de 123,3 por 100 mil habitantes, considerada média. Houve a confirmação de 4.063, destes, 56 são de dengue com sinais de alarme (DSA) e um óbito por dengue grave (DG) foi confirmado.

DETECÇÃO VIRAL – 2014 a 2024*

A Figura 02 apresenta a circulação dos sorotipos DENV de 2014 a 2024*. O sorotipo DENV1 é predominante, com os maiores percentuais de detecção ao longo dos anos. Os sorotipos DENV3 e DENV4 foram detectados pela última vez em 2015. Observa-se uma predominância na circulação do sorotipo DENV2 no estado em 2024*.



Fonte: SESA/COVEP/CEVEP/GAL. *Dados exportados em 14/05/2024, sujeitos a alterações.

Figura 02. Detecção do Sorotipo DENV, Ceará, 2014 a 2024*

AMOSTRAGEM

Foram selecionadas e sequenciadas, 20 amostras detectáveis para arboviroses, sendo 10 amostras de DENV1 e 10 amostras de DENV2, cuja coleta ocorreu de 25 de fevereiro a 23 de abril de 2024, semanas epidemiológicas de 9 a 17 de 2024 com Ct (Cycle Threshold) ≤ 30 (critério essencial), além de um controle negativo (Figura 3). As amostras foram selecionadas de modo a manter a representatividade temporal, além de maximizar a representatividade de municípios do estado. Buscou-se englobar perfil epidemiológico heterogêneo, com diferentes faixas etárias, sexo e de diferentes macrorregiões do estado.

O sequenciamento foi feito utilizando a tecnologia Illumina no equipamento MiSeq™, onde 19 dos genomas obtidos possuem cobertura acima de 92%. As sequências genômicas do vírus DENV1 e DENV2 foram montadas utilizando a plataforma Genoma Detective Platform (Version 2.14.2) (<https://www.genomedetective.com/db/ui/>). Após a montagem, os genomas foram classificados em relação a sorotipo/genótipo para cada vírus utilizando ferramentas online Dengue Virus Typing Tool (version 4.1) (<https://www.genomedetective.com/app/typingtool/dengue/>).

O sequenciamento genético das amostras selecionadas teve como objetivo realizar a vigilância genômica laboratorial, continuar monitorando o surgimento de novos arbovírus, sorotipos e genótipos do vírus DENV, sua dispersão no Ceará, especialmente Para tanto, foram selecionadas amostras de diferentes municípios do estado (Figuras 2). Uma das amostras foi solicitada na cidade de Cruz, mas o paciente reside em São Paulo, capital.

AMOSTRAGEM

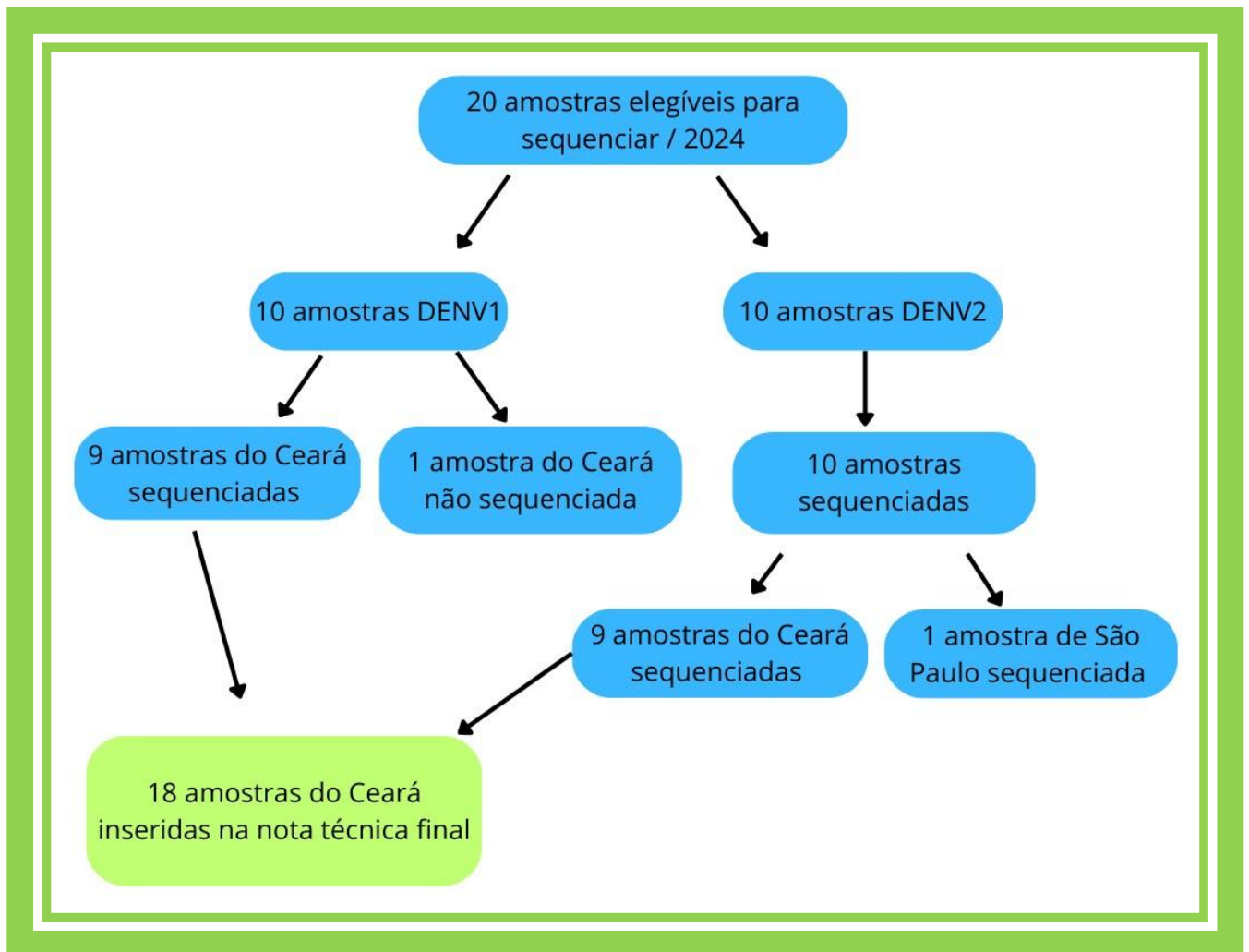


Figura 3: Fluxograma das amostras DENV1 e DENV2 sequenciadas. SEQ03_24. SE 09 a 17 de 2024.

RESULTADOS

Analisando as amostras sequenciadas, 72,2% eram de pacientes do sexo feminino (13/18) (Figura 4). Analisando por faixa etária, a maioria das amostras foram obtidas de pacientes nas faixas de 11 a 40 anos, sendo a faixa etária de 11 a 20 a que obteve maior quantidade de amostras sequenciadas, em maior quantidade amostras do sexo feminino (Figura 5).



Figura 4: Município de residência CE dos pacientes cujas amostras foram sequenciadas para arbovírus DENV1 e DENV2. SEQ03_24. SE 09 a 17 de 2024.

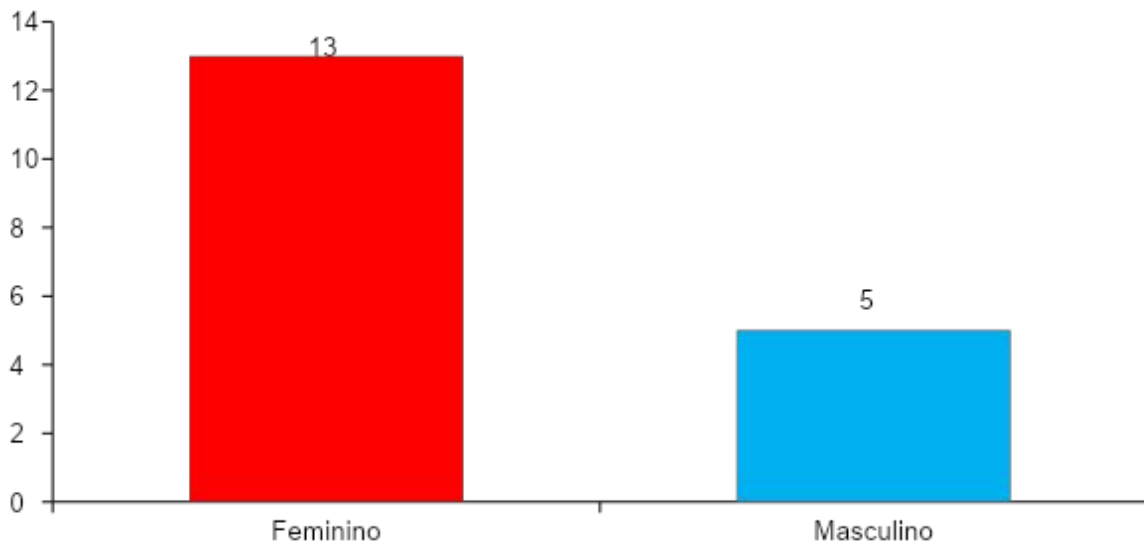


Figura 4: Sexo dos pacientes (município residência CE) cujas amostras foram sequenciadas. SEQ03_24. SE 9 a 17 de 2024.

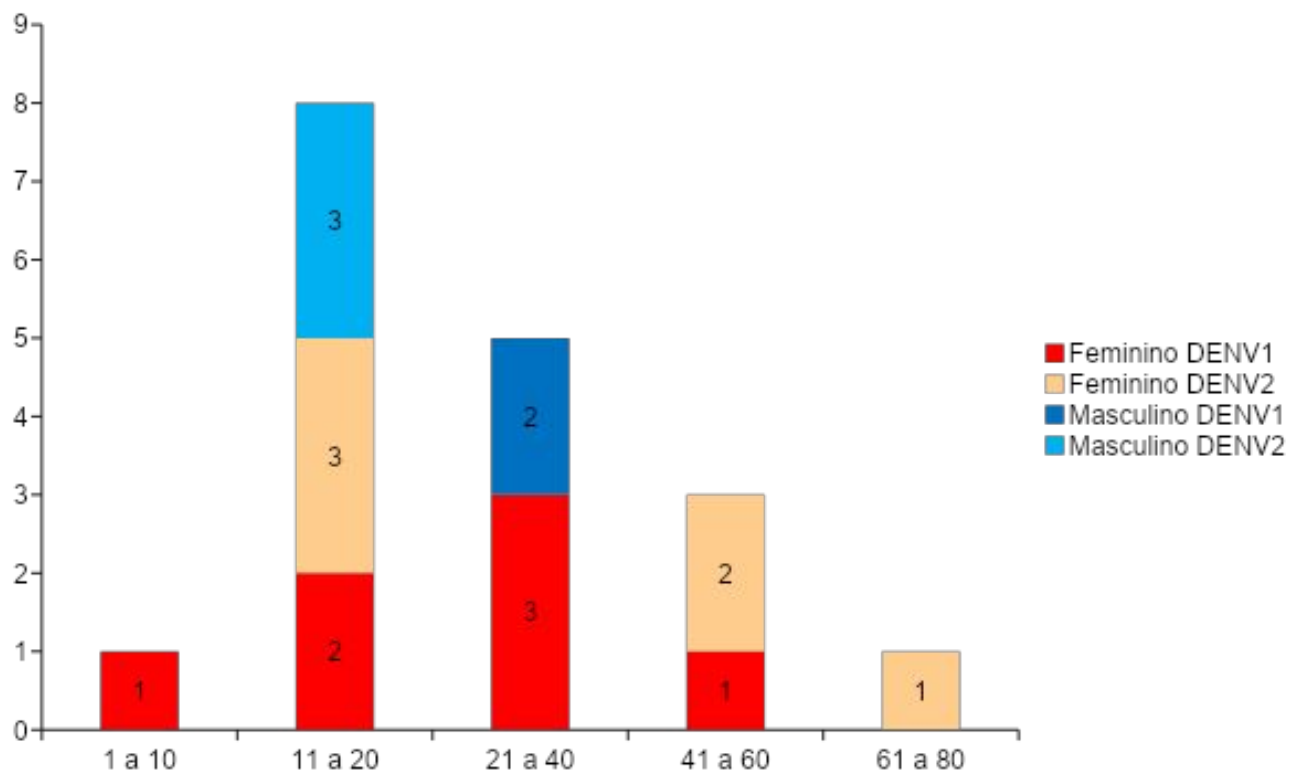


Figura 5: Idade dos pacientes (município residência CE) relacionado com sorotipo e sexo, cujas amostras foram sequenciadas. SEQ03_24. SE 9 a 17 de 2024.

RESULTADOS

Das 20 amostras de arbovírus elegíveis de para o sequenciamento, 10 pertenciam ao sorotipo 1 do vírus da dengue e 10 ao sorotipo 2, onde 19 apresentaram cobertura superior a 92% do genoma total, sendo uma das amostras pertencente a outro estado de residência (São Paulo). Utilizou-se, para essa nota técnica, apenas as amostras cujo município de residência localizava-se no Ceará, perfazendo um total de 18 amostras (Figura 3).

Das análises realizadas, foi identificado o genótipo V do DENV1 - em circulação já confirmada pela Nota Técnica 09_2023 - e o genótipo II do DENV2, conhecido como Cosmopolitan, primeira vez identificado no Ceará.

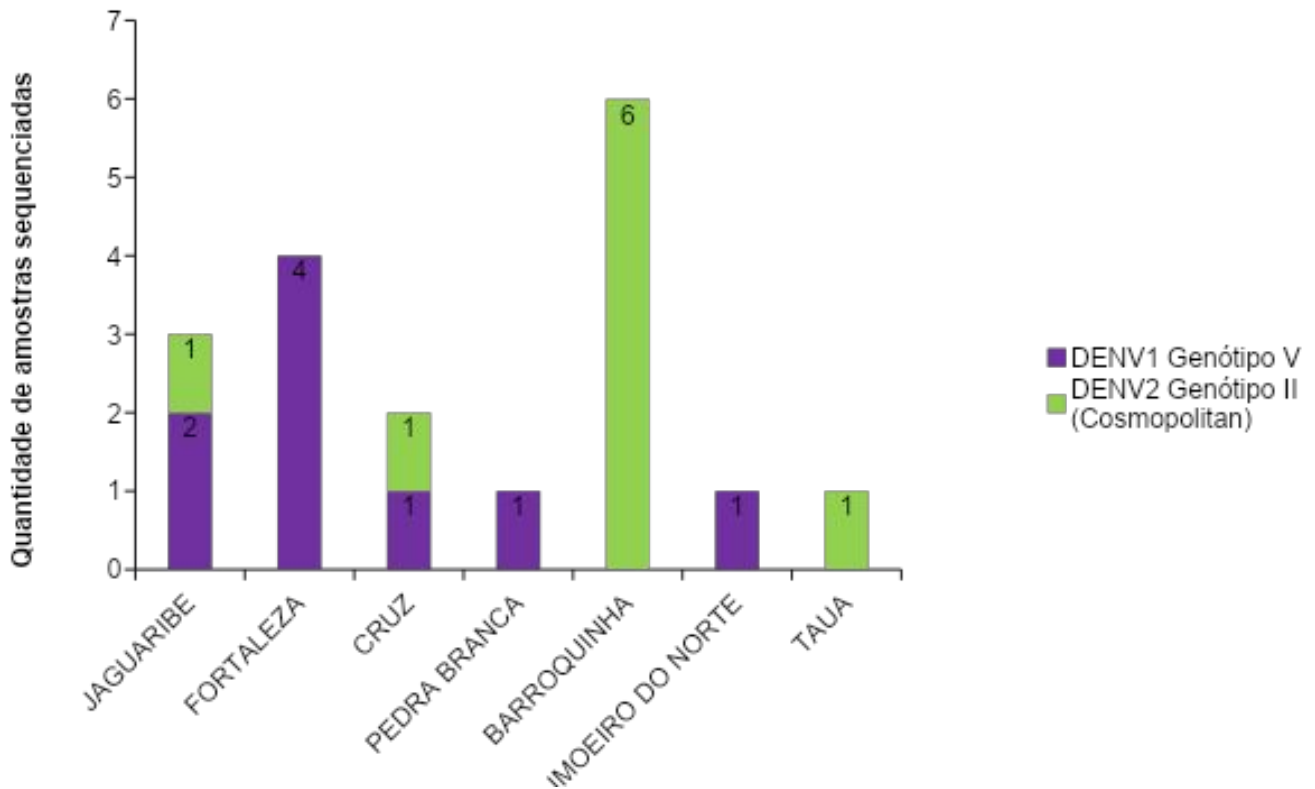


Figura 6: Genótipos de DENV1 e DENV2 sequenciadas no LACEN/Ceará distribuídas por municípios. SEQ03_24. SE 9 a 17 de 2024.

RESULTADOS

DENV1

Das 10 amostras, todas foram assinaladas como vírus da dengue sorotipo 1, genótipo V, pelo programa Dengue Virus Typing Tool. Entretanto 1 sequenciamento apresentou cobertura muito baixa, não sendo possível a análise do seu genoma e identificação do genótipo, embora tive boa carga viral, com Ct=16,8. Os valores de Ct figuraram entre 14,0 e 22,8, enquanto as coberturas oscilaram entre 97,9% e 99,3% para o conjunto geral de amostras. Considerando apenas as amostras de melhor cobertura (média 98,87%) a profundidade de cobertura média atingiu 4966,92X (Tabela 1).

Tabela 1: Amostras de DENV1 sequenciadas SEQ03_24 - LACEN/CE - 2024

ID_Amostra	Ct	reads	Depth of Coverage	Coverage	Virus assignment	Genotype assignment
SEQ03_24_44	16,8	2	1	2,30%	NÃO SEQUENCIADO	NÃO SEQUENCIADO
SEQ03_24_47	21,8	350451	3969,6	97,90%	DENV1	Genótipo V
SEQ03_24_41	14	261983	2962.1	98,30%	DENV1	Genótipo V
SEQ03_24_43	22,8	259704	2948,5	98,90%	DENV1	Genótipo V
SEQ03_24_49	21,5	362497	4121.1	98,90%	DENV1	Genótipo V
SEQ03_24_45	21,4	462641	5266,8	99,10%	DENV1	Genótipo V
SEQ03_24_46	18,3	679124	7682,8	99,10%	DENV1	Genótipo V
SEQ03_24_50	16,6	368871	4198.4	99,10%	DENV1	Genótipo V
SEQ03_24_42	20,4	178261	2005.1	99,20%	DENV1	Genótipo V
SEQ03_24_59	18,3	768235	8707.8	99,30%	DENV1	Genótipo V

RESULTADOS

DENV2

Das 10 amostras, todas foram assinaladas como vírus da dengue sorotipo 2, genótipo II, pelo programa Dengue Virus Typing Tool. Uma das amostras sequenciadas era de um paciente de São Paulo, não sendo incluída nessa nota técnica. Mesmo assim, a amostra foi sequenciada e seu resultado foi igual as demais (Sorotipo DENV2 genótipo II). Os valores de Ct figuraram entre 16,7 e 22,5, enquanto as coberturas oscilaram entre 92,2% e 99,1% para o conjunto geral de amostras. Considerando apenas as amostras de melhor cobertura (média 98,32%) a profundidade de cobertura média atingiu 5315,06X (Tabela 2).

Tabela 2: Amostras de DENV2 sequenciadas SEQ03_24 - LACEN/CE - 2024

ID_Amostra	Ct	reads	Depth of Coverage	Coverage	Virus assignment	Genotype assignment
SEQ03_24_53	18,2	667527	7622.1	92,20%	DENV2	Genótipo II
SEQ03_24_52	21,5	699945	8019.1	99,00%	DENV2	Genótipo II
SEQ03_24_48	19,5	495992	5638,4	99,10%	DENV2	Genótipo II
SEQ03_24_51	20,8	457323	5228.1	99,10%	DENV2	Genótipo II
SEQ03_24_54	22,5	321475	3675	99,10%	DENV2	Genótipo II
SEQ03_24_56	22,3	611236	6968,9	99,10%	DENV2	Genótipo II
SEQ03_24_57	24,5	429940	4853,1	99,10%	DENV2	Genótipo II
SEQ03_24_58	16,7	222065	2529.4	99,10%	DENV2	Genótipo II
SEQ03_24_60	18,1	479492	5439,9	99,10%	DENV2	Genótipo II

RESULTADOS

O vírus da dengue tipo 2 (DENV2) contribui substancialmente para a carga global da dengue e para a mortalidade relacionada à dengue nos trópicos e subtropicais.

Observa-se, nos últimos dias, um aumento do número de casos, confirmado laboratorialmente, de DENV2 no estado do Ceará. O DENV2 inclui seis genótipos, entre os quais o genótipo cosmopolita (genótipo II) é o mais difundido. Os surtos de dengue nos trópicos estão principalmente associados ao DENV-2 e ao aumento da distribuição geográfica do genótipo II (ou Genótipo cosmopolita) (YENAMANDRA et al., 2021).

De acordo com relatórios epidemiológicos, as recentes epidemias de dengue no Brasil e na América do Sul foram impulsionadas principalmente pela circulação dos sorotipos DENV-1 e DENV-2 que são os tipos mais comuns associados a surtos conhecidos (GIOVANETTI et al., 2022).

As linhagens cosmopolitas continuam a expandir-se geograficamente e foram relatadas introduções recentes na Ásia e na África (SUZUKI et al., 2019). Na América do Sul, o genótipo cosmopolita foi detectado no Peru em 2019 e se espalhou principalmente na província de Madre de Dios, onde foram notificados 4.893 casos totais de dengue durante aquele ano (GARCÍA et al., 2019). No Brasil foi identificado o genótipo Cosmopolitan pela primeira vez em Aparecida de Goiânia (GO), em 2022. Dado que cada genótipo pode resultar em resultados clínicos diferentes ou numa maior dispersão do vírus, a vigilância das estirpes circulantes é fundamental para a preparação da saúde pública (RICO-HESSE et al., 1997).

CONCLUSÃO

O LACEN/CE continua monitorando e divulgando os resultados do perfil genômico dos arbovírus (sorotipos e genótipos) que circulam no estado, obtidos por sequenciamentos de nova geração, realizando a vigilância genômica em amostras que contemplam os critérios de elegibilidade para a metodologia.

Nesse sequenciamento realizado pelo LACEN/CE, em 10 de maio de 2024, referente às semanas epidemiológicas (SE) de 9 a 17 de 2024, foi identificado o genótipo V do DENV1 – genótipo já em circulação no Ceará, confirmada pela Nota Técnica 09_2023 - e o genótipo II do DENV2, conhecido como Cosmopolitan, primeira vez identificado no Ceará neste sequenciamento.

Esse esforço do Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN/CE), com apoio da Secretaria da Saúde do Ceará, para permanecer com a vigilância genômica atuante e expandir para outros agravos de importância para a saúde pública, torna-se fundamental para acompanhar a evolução dos vírus, aprofundar no avanço da descoberta de novas linhagens e genótipos, com o também entender o comportamento da doença em dado período, permitindo assim, tomadas de ação em tempo hábil e oportuno.

Sendo assim, o sequenciamento genético torna-se um instrumento imprescindível para o monitoramento do padrão de circulação dos vírus, o entendimento da sua dispersão no presente e no passado, bem como detecção da introdução de novas linhagens e genótipos no estado do Ceará.

RECOMENDAÇÕES

- Monitoramento contínuo dos arbovírus de circulação no estado – DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4, CHIKV e ZIKV – e de outros de possível introdução, por meio da testagem por RT-qPCR, em amostras de fase aguda (até o 5º dia), possibilitando a realização da Vigilância Genômica no Estado do Ceará;
- Vigilância virológica com busca ativa e coleta de amostras de fase aguda, em todas as regiões do Ceará, priorizando as regiões sem reconhecimento de circulação dos sorotipos da dengue;
- Campanhas educativas com o objetivo de acabar com os criadouros do mosquito do gênero Aedes, principal transmissor dos arbovírus.

Dessa forma, o sequenciamento genético torna-se um instrumento imprescindível para o monitoramento do padrão de circulação das arboviroses, o entendimento da sua dispersão, bem como detecção da introdução de novos genótipos no estado do Ceará.

REFERÊNCIA

LINDENBACH, B. D.; THIEL, H. J.; RICE, C. M. **Flaviviridae: the viruses and their replication**. In KNIPE, D. M. et al. *Fields Virology*, p. 1101– 1152, 2007.

VASILAKIS, N.; WEAVER, S.C. **The History and Evolution of Human Dengue Emergence**. *Advances in Virus Research*, v. 72. p. 1-76, 2008.

DOLAN PT, TAGUWA S, RANGEL MA, ACEVEDO A, HAGAI T, ANDINO R, FRYDMAN J. **Principles of dengue virus evolvability derived from genotype-fitness maps in human and mosquito cells**. *Elife*. 2021 Jan 25;10:e61921. doi: 10.7554/eLife.61921. PMID: 33491648; PMCID: PMC7880689.

SECRETARIA DA SAÚDE. GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ. **Boletim Epidemiológico das Arboviroses**. 29/04/2024.

YENAMANDRA SP, KOO C, CHIANG S, LIM HSJ, YEO ZY, NG LC, HAPUARACHCHI HC. **Evolution, heterogeneity and global dispersal of cosmopolitan genotype of Dengue virus type 2**. *Sci Rep*. 2021 Jun 29;11(1):13496. doi: 10.1038/s41598-021-92783-y. PMID: 34188091; PMCID: PMC8241877.

SUZUKI K, PHADUNGSOMBAT J, NAKAYAMA EE, SAITO A, EGAWA A, SATO T, RAHIM R, HASAN A, LIN MY, TAKASAKI T, RAHMAN M, SHIODA T. **Genotype replacement of dengue virus type 3 and clade replacement of dengue virus type 2 genotype Cosmopolitan in Dhaka, Bangladesh in 2017**. *Infect Genet Evol*. 2019 Nov;75:103977. doi: 10.1016/j.meegid.2019.103977. Epub 2019 Jul 24. PMID: 31351235.

GARCÍA MP, PADILLA C, FIGUEROA D, MANRIQUE C, CABEZAS C. **Emergence of the Cosmopolitan genotype of dengue virus serotype 2 (DENV2) in Madre de Dios, Peru, 2019**. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2022 Jan-Mar;39(1):126-128. English, Spanish. doi: 10.17843/rpmesp.2022.391.10861. Epub 2022 Jun 24. PMID: 35766734.

RICO-HESSE R, HARRISON LM, SALAS RA, TOVAR D, NISALAK A, RAMOS C, BOSHELL J, DE MESA MT, NOGUEIRA RM, DA ROSA AT. **Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas**. *Virology*. 1997 Apr 14;230(2):244-51. doi: 10.1006/viro.1997.8504. PMID: 9143280.



CEARÁ
GOVERNO DO ESTADO
SECRETARIA DA SAÚDE