

NOTA TÉCNICA

Vigilância Genômica de arbovírus de circulação no estado do Ceará

Nº 05 | 08/07/2024



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 18/06/2024, 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 30 de abril a 06 de junho 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
Carlos Garcia Filho
Glaubênia Gomes dos Santos
Juliana Benício Muniz
Kiliana Nogueira Farias da Escóssia
Larissa Maria Façanha Duarte
Leda Maria Simões Mello
Vitória Carla Carvalho

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



CEARÁ
GOVERNO DO ESTADO
SECRETARIA DA SAÚDE

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). 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.

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).

Para a saúde pública, o sequenciamento genético das arboviroses urbanas (DENV, CHIKV e ZIKV), aliado a outros estudos, possibilitam determinar sobre os genótipos circulantes e/ou reintroduzidos em território brasileiro, sugerir se as mutações identificadas podem influenciar potencialmente na patogenicidade, transmissibilidade, e se apresentam capacidade para alterar o perfil clínico e epidemiológico conhecido, além de nortear possíveis ações de controle vetorial, direcionar medidas diagnósticas e permitir a manutenção da vigilância virológica no país (MS/SVSA/CGLAB).

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).

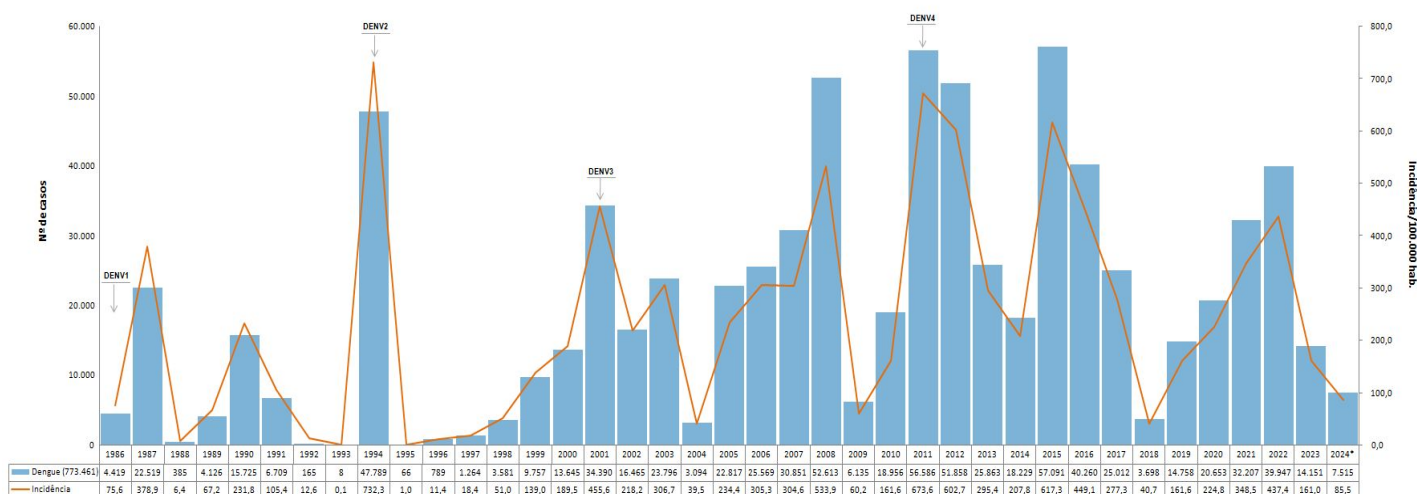
INTRODUÇÃO

O Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará realiza a vigilância Laboratorial através do monitoramento constante dos vírus que circulam no nosso estado, possibilitando o estabelecimento das políticas públicas no âmbito do estado do Ceará.

A presente nota técnica tem por objetivo divulgar os resultados da vigilância genômica realizada em amostras detectáveis para DENV e que foram coletadas em todo o estado do Ceará entre as semanas epidemiológicas (SE) 18 a 23 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 773.461 casos de dengue.



Fonte: SESA/COVEP/CEVEP/Sinan. *Dados exportados em 01/07/2024, 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*

A circulação simultânea de sorotipos aumenta o risco da ocorrência de casos graves de dengue. Destacamos que, nos últimos anos, foram registrados casos da doença em todos os meses do ano, sempre com predomínio no primeiro semestre devido a fatores como pluviosidade, temperatura e umidade

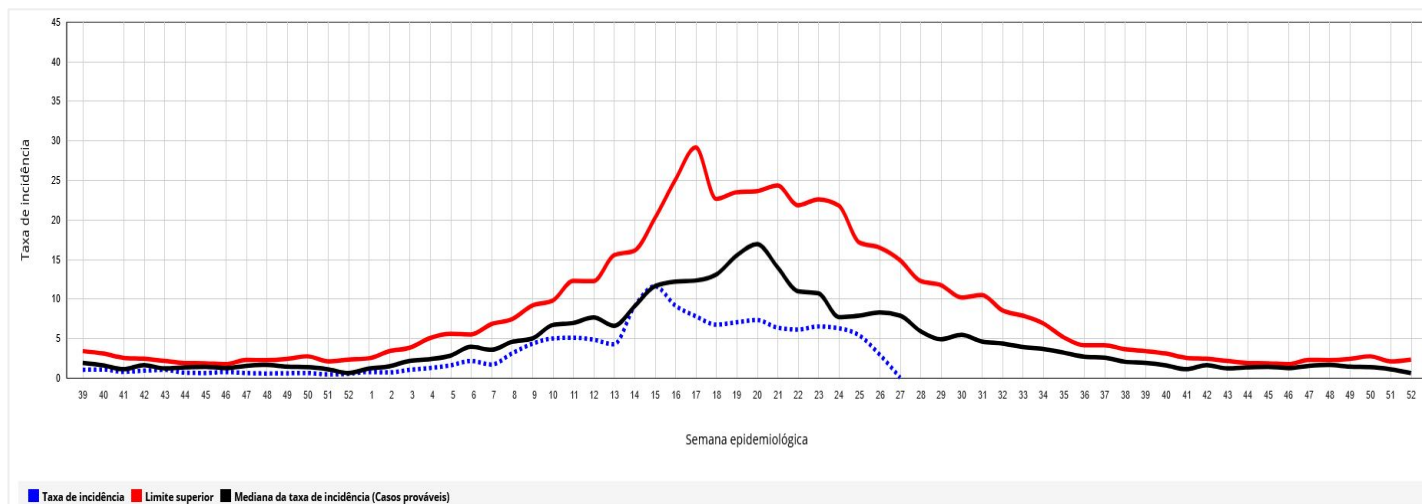
Em 2024, até a semana epidemiológica (SE) 27, foram notificados no Ceará 36.608 casos de dengue. A taxa de incidência dos casos prováveis é de 126,6 por 100 mil habitantes, considerada média. Houve a confirmação de 7.515, destes, 111 casos de dengue com sinais de alarme (DSA) e três óbitos por dengue grave (DG) foram confirmados.

Em relação a detecção viral foram isolados os sorotipos (DENV1 e DENV2), até o momento temos uma maior detecção do sorotipo DENV2 nos resultados das amostras isoladas de casos confirmados de dengue no Ceará.

CENÁRIO EPIDEMIOLÓGICO DA DENGUE

A Secretaria da Saúde do Ceará (SESA) utiliza o diagrama de controle como ferramenta de monitoramento, que descreve o comportamento da taxa de incidência da doença em um ano ou período específico, comparando-o com a média histórica temporal de casos.

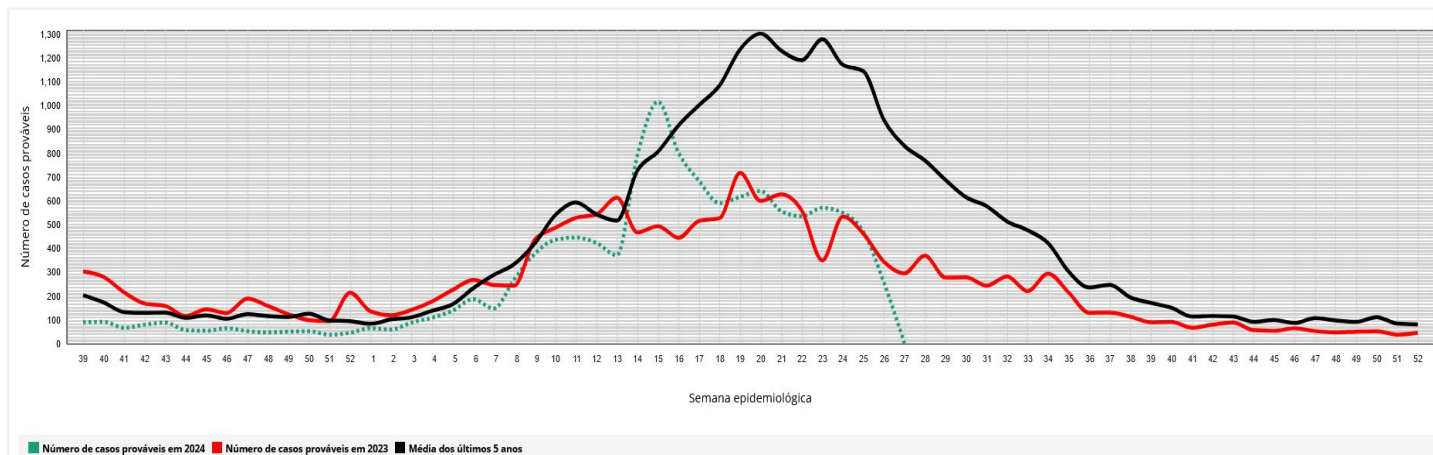
O diagrama de controle para o Estado do Ceará, no ano de 2024, sinaliza que a taxa de incidência dos casos prováveis de dengue por 100 mil habitantes não ultrapassou limite superior até o momento. O cenário no estado, desde a 39ª semana epidemiológica de 2023, é considerado dentro do padrão endêmico do Estado (figura 2).



Fonte: IntegraSUS. *Dados atualizados em 01/07/2024, sujeitos a alterações.

Figura 2. Diagrama da taxa de incidência de Dengue (casos prováveis) 2024*

A figura 3 mostra a curva de casos prováveis de dengue por semana epidemiológica nos anos de 2023 e 2024*. Em 2024, observa-se um aumento nos registros a partir da SE 08. A curva de casos indica que, no ano em curso, entre as semanas 14 a 16, os registros são superiores ao observado no mesmo período de 2023 e a curva da média dos últimos 5 anos. Importante destacar que esse aumento reflete a ocorrência de surtos localizados em alguns municípios das regiões Norte e Sul do estado.



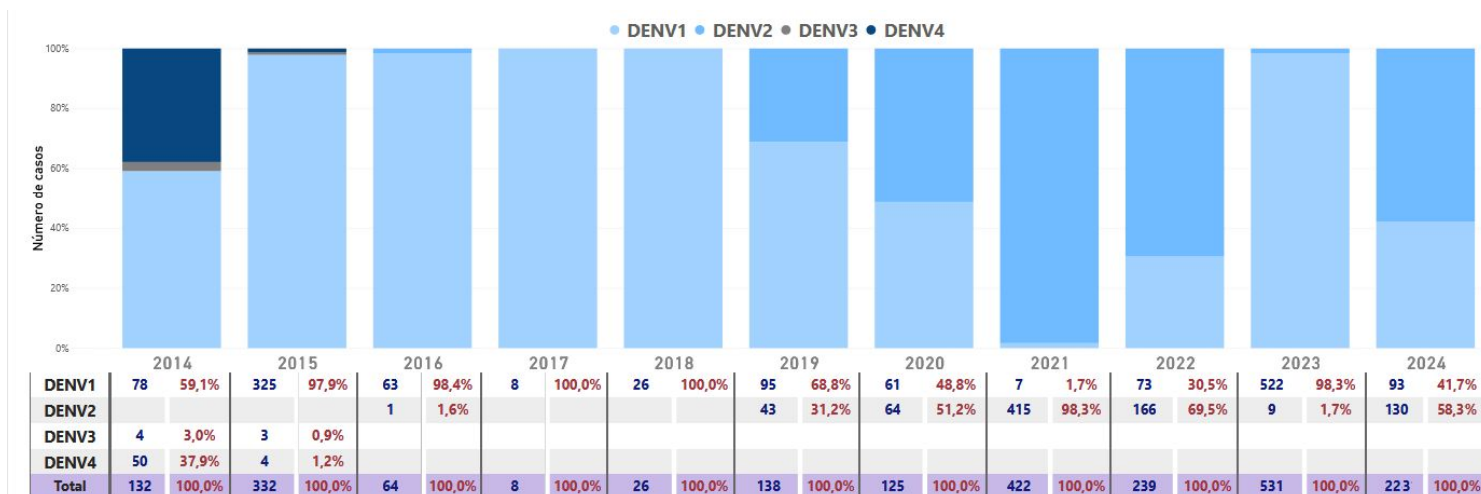
Fonte: IntegraSUS. *Dados atualizados em 01/07/2024, sujeitos a alterações.

Figura 3. Curva epidêmica de casos prováveis de dengue por semana epidemiológica, 2024*

VIGILÂNCIA LABORATORIAL | DENGUE

Detecção viral – 2014 a 2024*

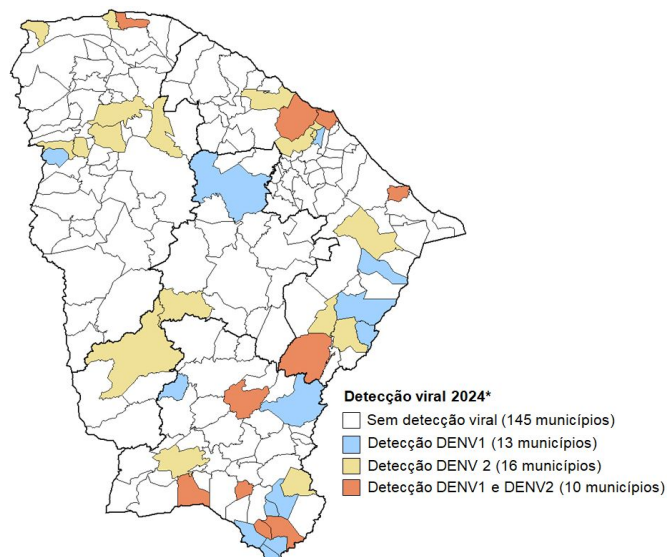
A Figura 04 apresenta a circulação dos sorotipos DENV de 2014 a 2024*. O sorotipo DENV1 é predominante, com os maiores percentuais de detecção ao longo dos anos. Os sorotipos DENV3 e DENV4 foram detectados pela última vez em 2015. Em 2024, o Lacen cadastrou **5.284** amostras para o testes de **Biologia Molecular (RT-PCR)** de casos suspeitos, provenientes de 153 municípios do estado. Dessas, **78,5% (4.149/5.284)** foram liberadas e tiveram os seguintes resultados: Detecção do sorotipo DENV1 em 93 amostras e o DENV2 em 130 amostras de casos confirmados de dengue.



Fonte: SESA/COVEP/CEVEP/GAL. *Dados exportados em 02/07/2024, sujeitos a alterações.

Figura 04. Detecção do Sorotipo DENV, Ceará, 2014 a 2024*

A figura 05 apresenta os 39 municípios com circulação do DENV no estado. O sorotipo DENV1 foi isolado em 13 municípios e o DENV2 em 16 municípios. Destacam-se dez municípios com circulação simultânea do DENV1 e DENV2. Analisando a distribuição espacial dos municípios que isolaram o vírus (DENV) em relação ao total de municípios com amostras enviadas para diagnóstico de Biologia Molecular (RT-PCR), observa-se uma baixa circulação do vírus (DENV) no estado com 25,5% (39/153) dos municípios com detecção viral.



MUNICÍPIOS	DENV1	DENV2	SRS
GRACA		44	SRSNOR
BARROQUINHA		26	SRSNOR
FORTALEZA	17	5	SRSFOR
CRUZ	6	13	SRSNOR
FORTIM	12	3	SRSLL
TAUA		11	SRSSC
JATI	9		SRSCARIRI
SANTANA DO CARIRI	7	2	SRSCARIRI
POTIRETAMA	8		SRSLL
BREJO SANTO	5	2	SRSCARIRI

Fonte: SESA/COVEP/CEVEP/GAL. *Dados exportados em 02/07/2024, sujeitos a alterações.

Figura 05. Detecção do sorotipo DENV, segundo município de residência, Ceará, 2024*

AMOSTRAGEM

Foram selecionadas para serem sequenciadas 29 amostras detectáveis para arboviroses, sendo 10 amostras DENV1 e 19 amostras DENV2, cuja coleta ocorreu de 30 de abril a 06 de junho de 2024, semanas epidemiológicas de 18 a 23 de 2024 com Ct (Cycle Threshold) ≤ 30 (critério essencial), além de um controle negativo (figura 6). 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 realizado utilizando a tecnologia Illumina no equipamento MiSeq™, onde 17 dos genomas obtidos possuem cobertura acima de 74%, 10 não tiveram boa cobertura e 02 não conseguiram ser sequenciadas.

As sequências genômicas do vírus DENV1 e DENV2 foram montadas utilizando o software ViralFlow, versão 1.2.0 (<https://viralflow.github.io/>, ViralFlow 1.2.0.). Após a montagem, os genomas foram classificados em relação a sorotipo/genótipo para cada vírus, utilizando ferramenta online DengueSurver GISAID EpiArbo (<https://www.epicov.org/epi3/frontend#d772c>).

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 7).

AMOSTRAGEM

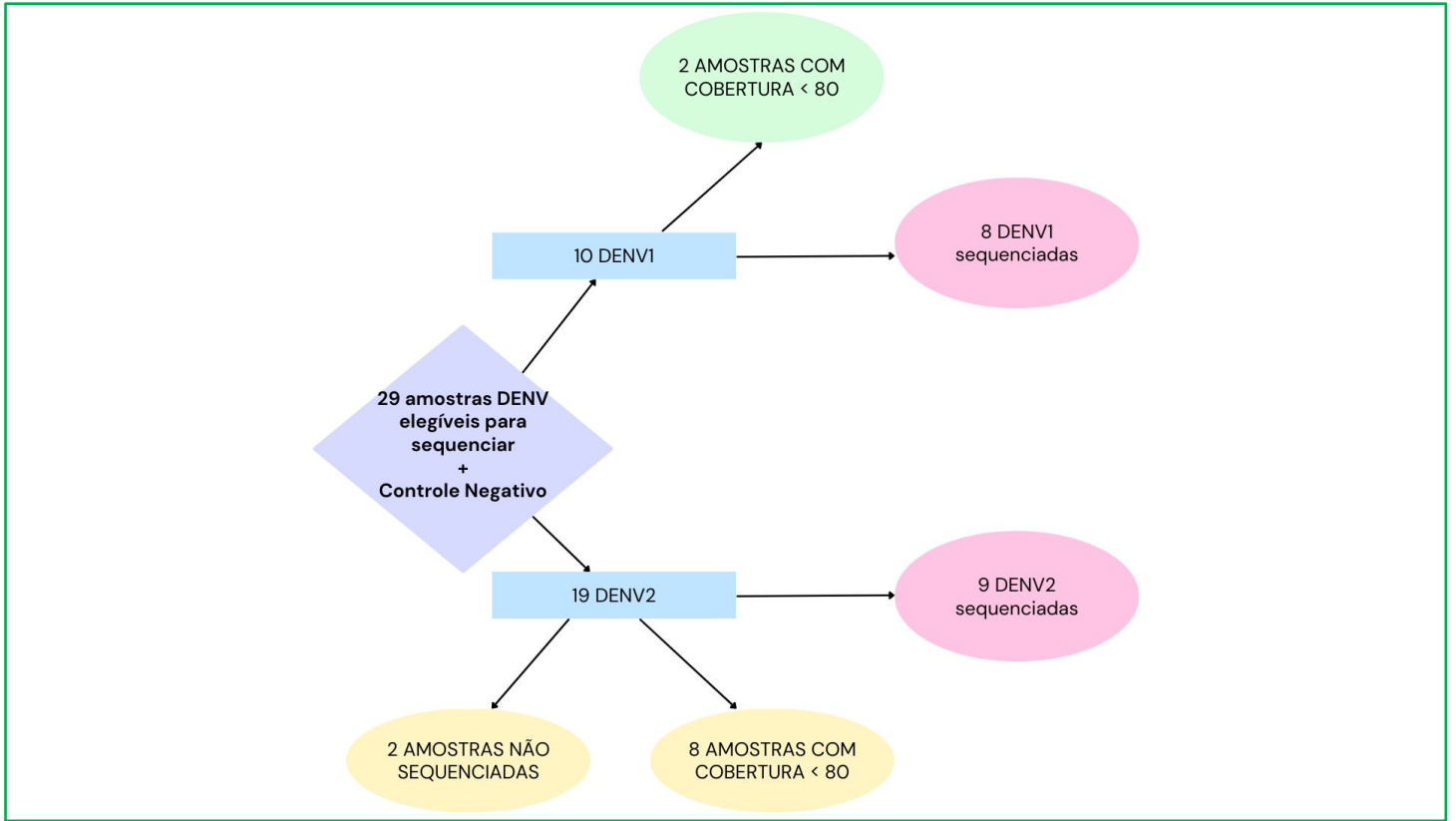


Figura 6: Fluxograma das amostras DENV1 e DENV2 sequenciadas. SE 18 a 23 de 2024.

RESULTADOS

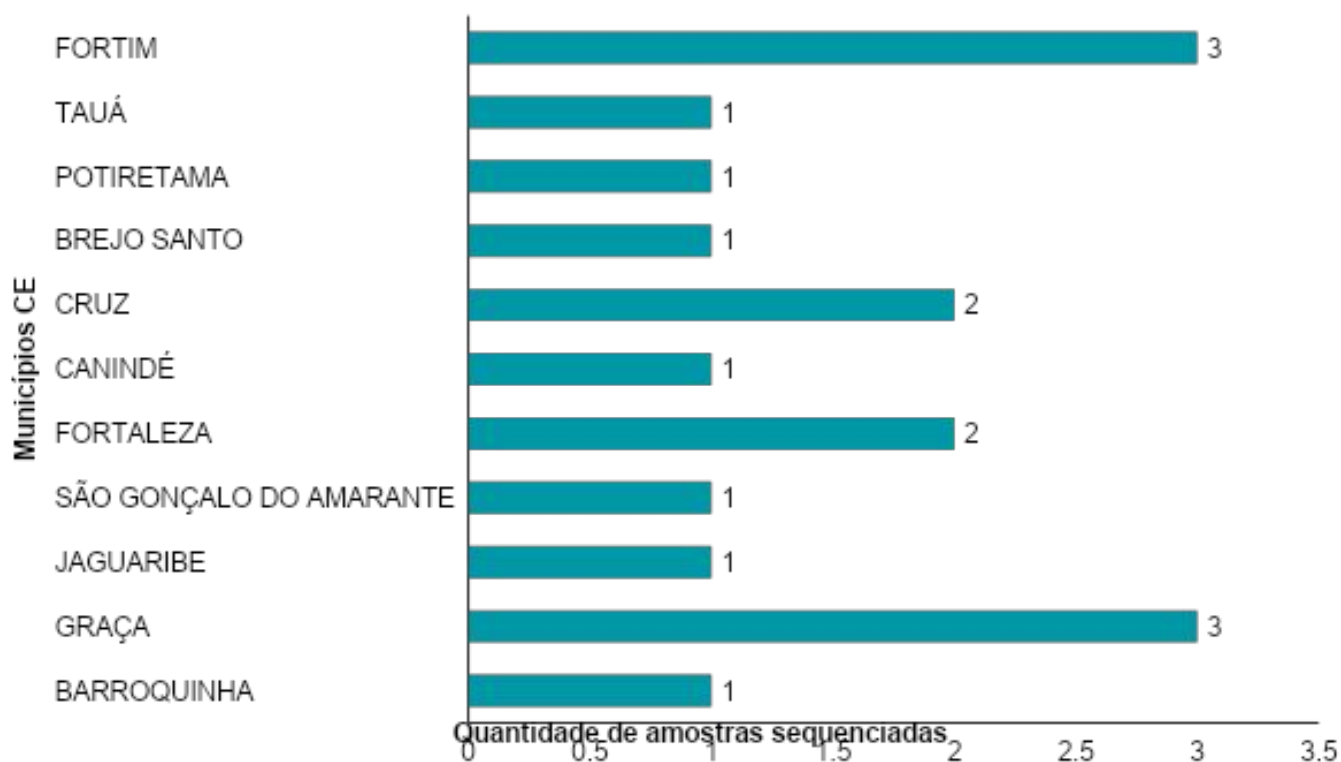


Figura 7: Município de residência CE dos pacientes cujas amostras foram sequenciadas para arbovírus DENV1 e DENV2. SE 18 a 23 de 2024.

Analisando as amostras sequenciadas, 82,36% eram de pacientes do sexo feminino (14/17). Analisando por faixa etária, a maioria das amostras sequenciadas foram de pacientes na faixa de idade de 21 a 40 anos. (Tabela 1).

RESULTADOS

Variáveis	N	%
Sexo		
Masculino	3	17,64
Feminino	14	82,36
Idade		
11 a 20	3	17,64
21 a 40	8	47,05
41 a 60	4	23,53
61 a 80	2	11,78

Tabela 1: Idade e sexo dos pacientes, cujas amostras foram sequenciadas para arbovírus DENV1 e DENV2. SE 18 a 23 de 2024.

RESULTADOS

Das análises realizadas, continua em circulação nos municípios já citados, o genótipo V do DENV1 e o genótipo II (Cosmopolitan) do DENV2.

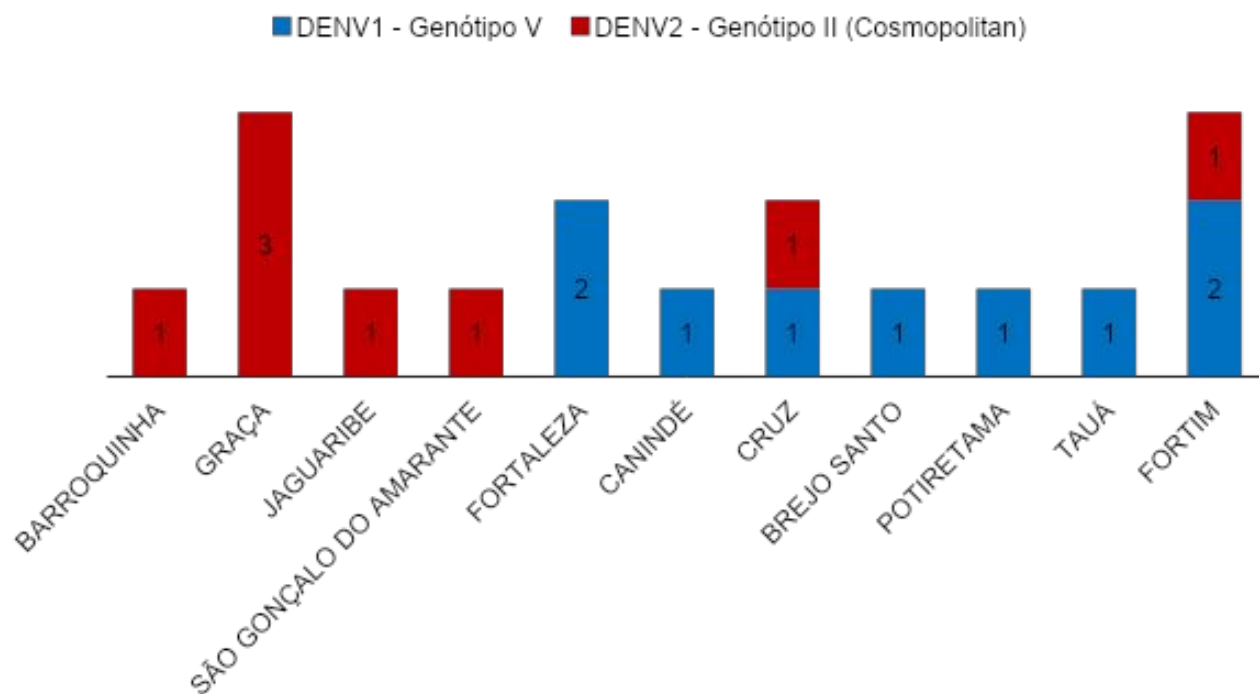


Figura 8: Genótipos de DENV1 e DENV2 sequenciados no LACEN/Ceará distribuídas por municípios. SE 18 a 23 de 2024.

RESULTADOS

DENV1

Das 10 amostras, 8 foram assinaladas como vírus da dengue sorotipo 1, genótipo V, pela ferramenta online DengueSurver GISAID EpiArbo. Embora o CT de 2 amostras estivessem dentro de critério de elegibilidade para o sequenciamento, elas apresentaram cobertura muito baixa, não sendo incluídas nesta nota técnica. Os valores de Ct figuraram entre 14,0 e 22,8, enquanto as coberturas oscilaram entre 80,7% e 99,2% para o conjunto geral de amostras.

DENV2

Das 19 amostras, 9 foram assinaladas como vírus da dengue sorotipo 2, genótipo II, pela ferramenta online DengueSurver GISAID EpiArbo, 2 não conseguiram ser sequenciadas pelo equipamento e 8 não apresentaram cobertura aceitáveis. Os valores de Ct figuraram entre 16,7 e 22,5, enquanto as coberturas oscilaram entre 74% e 98,5% para o conjunto geral de amostras.

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, referente às semanas epidemiológicas (SE) de 18 a 23 de 2024, foi identificado o genótipo V do DENV1 e o genótipo II (Cosmopolitan) do DENV2.

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, ZIKV, MAY e ORO – 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.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA. **Manual de Procedimentos Obrigatórios para o sequenciamento de arbovírus na Rede Nacional de Sequenciamento Genético**. Brasília – DF, Maio/2023.



CEARÁ
GOVERNO DO ESTADO
SECRETARIA DA SAÚDE