

The top half of the cover features a microscopic image. On the right, a blue-tinted DNA double helix is visible, with its two strands and connecting rungs clearly shown. On the left, there is a large, spherical virus particle with a textured, bumpy surface, characteristic of coronaviruses. The background is a light, hazy blue. The entire image is framed by diagonal green and orange stripes on the left side.

NOTA TÉCNICA

Vigilância Genômica do SARS-CoV-2 no Ceará

Rastreamento e monitoramento da circulação de variantes de preocupação

Nº 01 | 22/11/2023



CEARÁ
GOVERNO DO ESTADO
SECRETARIA DA SAÚDE

Governador do Estado do Ceará
Elmano de Freitas da Costa

Secretário da Saúde do Ceará
Tânia Maria Silva Coelho

Secretária Executiva de Vigilância em Saúde
Antônio Silva Lima Neto

Diretora do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/CE)
Liana Perdigão Mello

Coordenadora de Vigilância Epidemiológica e Prevenção em Saúde

Ana Maria Peixoto Cabral Maia

Elaboração e revisão

Ana Carolina Barjud Marques Máximo

Karene Cavalcante Ferreira

Karizya Holanda Verissimo Ribeiro

Nicole Silva França

Pâmela Maria Costa Linhares

Shirlene Telmos Silva de Lima

Tayna da Silva Fiuza

Vânia Angélica Feitosa Viana

Colaboração

Antônio Carlos de Lima Firmino

Débora Bezerra Silva

Gustavo de Oliveira Gomes

Irihane Lacerda de Vasconcelos Mendes

Larissa Maria Façanha Duarte

Leda Maria Simões Mello

Maria Elisabeth Lisboa de Melo

APRESENTAÇÃO

O sequenciamento genético tem sido uma ferramenta essencial para gerar dados genômicos, impulsionar a resposta laboratorial e proporcionar melhor entendimento dos padrões evolutivos e de dispersão do SARS-CoV-2, além de direcionar medidas terapêuticas, diagnósticas ou ainda contribuir no entendimento do impacto da vacinação.

As estratégias e medidas atuais recomendadas pelos órgãos internacionais de saúde - OMS e OPAS - estão voltadas à detecção precoce das variantes de SARS-CoV-2 e ao estudo da dispersão do vírus, pontos fundamentais para se conhecer os padrões globais de circulação do SARS-CoV-2, no presente e no passado.

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, rastreamento e monitoramento de variantes de preocupação no estado do Ceará.



CEARÁ
GOVERNO DO ESTADO
SECRETARIA DA SAÚDE

INTRODUÇÃO

O Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará é reconhecido por realizar análises laboratoriais de interesse da vigilância em saúde no estado e esteve à frente do diagnóstico molecular da Covid-19 desde o início da pandemia com a realização de mais de 976 mil testes de RT-qPCR para pesquisa de SARS-CoV-2. O LACEN-CE também se dedica à busca e emprego de novas metodologias de alta complexidade para diagnóstico laboratorial e pesquisa de patógenos emergentes e re-emergentes, incluindo a tecnologia de sequenciamento de nova geração.

Diante do cenário epidemiológico da COVID-19, foi instituída a Rede Nacional de Sequenciamento Genético para a Vigilância em Saúde. Em parceria com a Coordenação Geral de Laboratórios (CGLAB), o LACEN-CE compõe a Rede e realiza o monitoramento genômico do SARS-CoV-2 no estado do Ceará. O sequenciamento genético tem sido uma ferramenta essencial para gerar dados genômicos, impulsionar a resposta laboratorial e proporcionar melhor entendimento dos padrões evolutivos e de dispersão do SARS-CoV-2, além de direcionar medidas terapêuticas, diagnósticas ou ainda contribuir no entendimento do impacto da vacinação (MUNNINK et al., 2021).

As estratégias e medidas atuais recomendadas pelos órgãos internacionais de saúde - OMS e OPAS - estão voltadas à detecção precoce das variantes de SARS-CoV-2 e ao estudo da dispersão do vírus, pontos fundamentais para se conhecer os padrões globais de circulação do SARS-CoV-2, no presente e no passado. Existem atualmente mais de 800 linhagens de SARS-CoV-2 nomeadas no mundo, porém, apesar do elevado número de linhagens circulantes, apenas algumas preocupam quanto a alterações nas características do vírus.

Desde 15 de março de 2023 a Organização Mundial de Saúde atualizou suas definições de modo a especificar as sublinhagens de Ômicron em variantes de preocupação (VOC, *variant of concern*) e variante de interesse (VOI, *variant of interest*), além das variantes sob monitoramento (VUM, *variants under investigation*). Esta reorganização ocorre uma vez que sequências da variante Ômicron compreendem cerca de 98% das sequências disponíveis desde fevereiro de 2022, sendo necessária maior granularidade para comparar as linhagens surgidas mais recentemente (WHO, 2023).

INTRODUÇÃO

Desse modo, agora letras gregas serão atribuídas apenas a VOCs, enquanto VOIs serão denominadas de acordo com o nome assinalado pelo *Nextstrain* ou PANGO. A OMS fará análises regulares dos risco de VOIs e VOCs. As definições atualizadas compreendem (TAG-VE, 2023):

- VUM, Variantes sob Monitoramento: uma variante com mutações sobre as quais há suspeitas de que afetam características do vírus e com sinais de crescimento acelerado em relação a outras variantes em circulação, global ou localmente, mas para a qual há poucas/obscuras evidências de impacto fenotípico ou epidemiológico.
- VOI, Variantes de Interesse: uma variante com mutações cujos impactos preditos ou conhecidos nas características do vírus afetam sua transmissibilidade, virulência, evasão imune, suscetibilidade a fármacos, detectabilidade e ainda com sinais de crescimento acelerado em relação a outras variantes em circulação em mais de uma região considerada pela OMS, com ainda mais algumas especificações.
- VOC, Variantes de Preocupação: uma variante que já atende aos critérios de VOI, mas que através de avaliação de risco pelo TAG-VE¹, é associado (com moderado ou alto nível de confiança e em relação a outras linhagens) a pelo menos um dos seguintes critérios: detrimento na severidade clínica da doença; mudança na epidemiologia da doença de modo a causar impactos substanciais na capacidade dos sistemas de saúde de prestar cuidados adequados a pacientes com COVID-19 ou outras doenças - sendo necessárias intervenções de saúde pública; OU redução significativa da efetividade de vacinas disponíveis contra formas severas da doença.

Para atender às orientações feitas pelos organismos internacionais de saúde e a demandas governamentais, o LACEN-CE vem por meio deste documento apresentar seus resultados mais recentes nesta seara, obtidos em novembro de 2023 sobre amostras das semanas epidemiológicas de 41 a 45 deste ano.

¹Grupo de Aconselhamento Técnico sobre a Evolução do SARS-CoV-2 da OMS - WHO's Technical Advisory Group on SARS-CoV-2 Virus Evolution

AMOSTRAGEM

Foram selecionadas e sequenciadas, **21 amostras** cuja coleta ocorreu entre os dias 14 de setembro e 6 de novembro, semanas epidemiológicas de 37 a 45 de 2023, com CT (Cycle Threshold) ≤ 27 (critério essencial que indica alta viremia no paciente) e outros critérios de elegibilidade (como amostras de pessoas que foram a óbito ou que estão com sintomas graves da doença), além de um controle negativo. As amostras foram selecionadas de modo a manter a representatividade temporal, além de maximizar a representatividade de municípios do estado. Foi incluída também amostras de um paciente residente em um outro estado, mas que se encontrava no Ceará. 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™, sendo que 15 dentre os genomas obtidos possuem cobertura acima de 90%. As sequências genômicas do vírus SARS-CoV-2 foram montadas utilizando o software ViralFlow em sua versão mais atualizada (<https://viralflow.github.io/>, ViralFlow 1.0.0.0 atualizado em 11 de novembro de 2023) (DEZORDI et al., 2022). A classificação das linhagens foi feita com o pangolin através do próprio ViralFlow utilizando a versão mais recente do pangolin e de seu conjunto de dados (pangolin-data (v1.23.1), constellations (v0.1.12), scorpio (v0.3.19)).

O sequenciamento genético das amostras selecionadas teve como objetivo realizar a vigilância genômica laboratorial, continuar avaliando a dispersão das VOCs no Ceará, especialmente a VOC Ômicron e monitorar a ocorrência e dispersão de linhagens de interesse como os principais genomas sequenciados e depositados em outubro de 2023, descendentes de XBB.1.5.70, GK.1, JD.1 e similares. Para tanto, foram selecionadas amostras de diferentes municípios do estado (Figuras 1 e 2).

AMOSTRAGEM

Das amostras com critérios elegíveis para o sequenciamento genético, 66,6% provinham de pacientes do sexo feminino (14/21) (Figura 3). Analisando por faixa etária, apesar do número reduzido, houve boa distribuição ao longo das diferentes faixas, com a maioria das amostras obtidas de pacientes entre 31 e 40 anos (Figura 4).

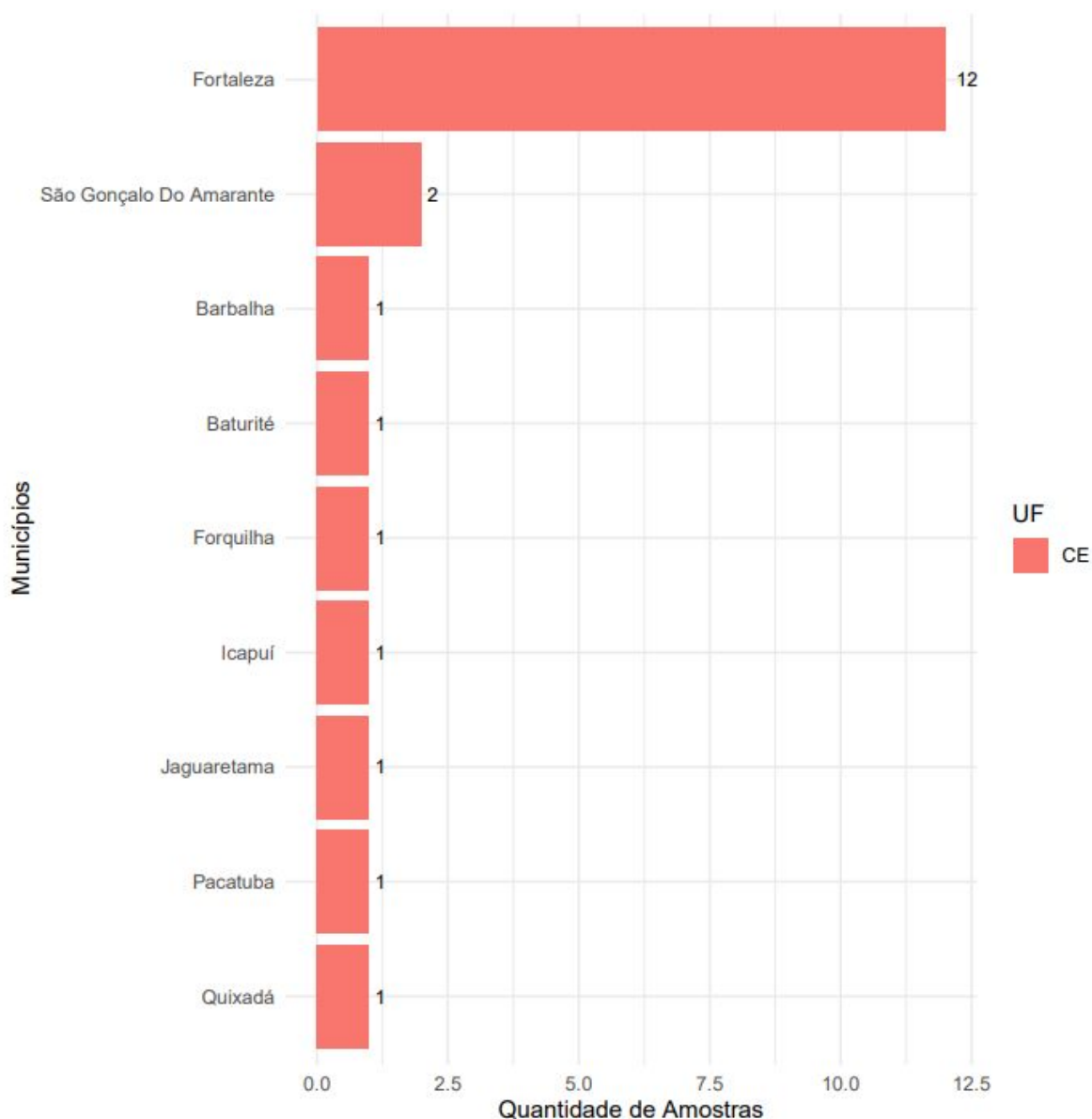


Figura 1: Município de residência dos pacientes cujas amostras foram sequenciadas para SARS-CoV-2.

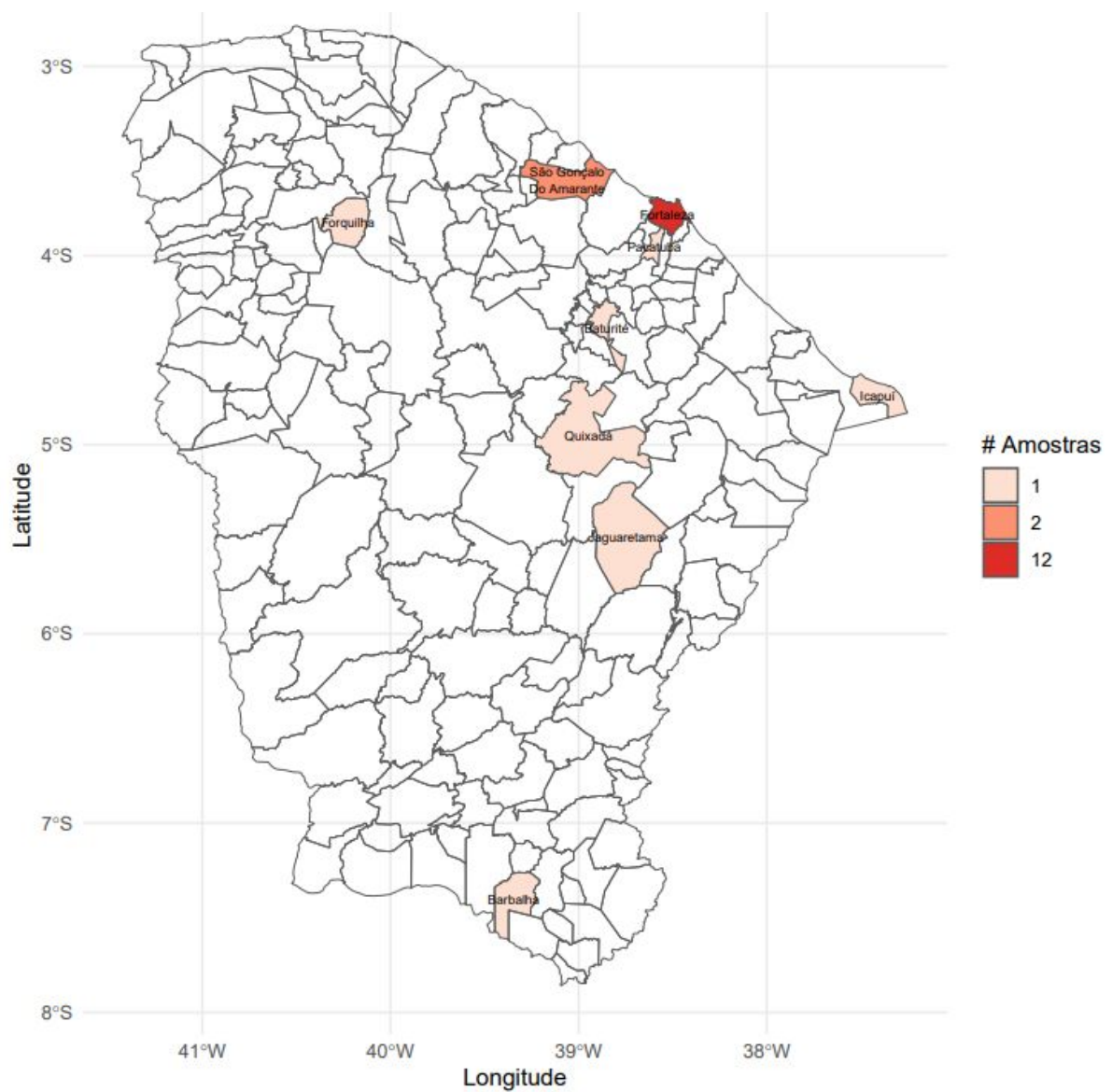


Figura 2: Mapa dos municípios de residência dos pacientes cujas amostras foram sequenciadas para SARS-CoV-2 no Ceará.

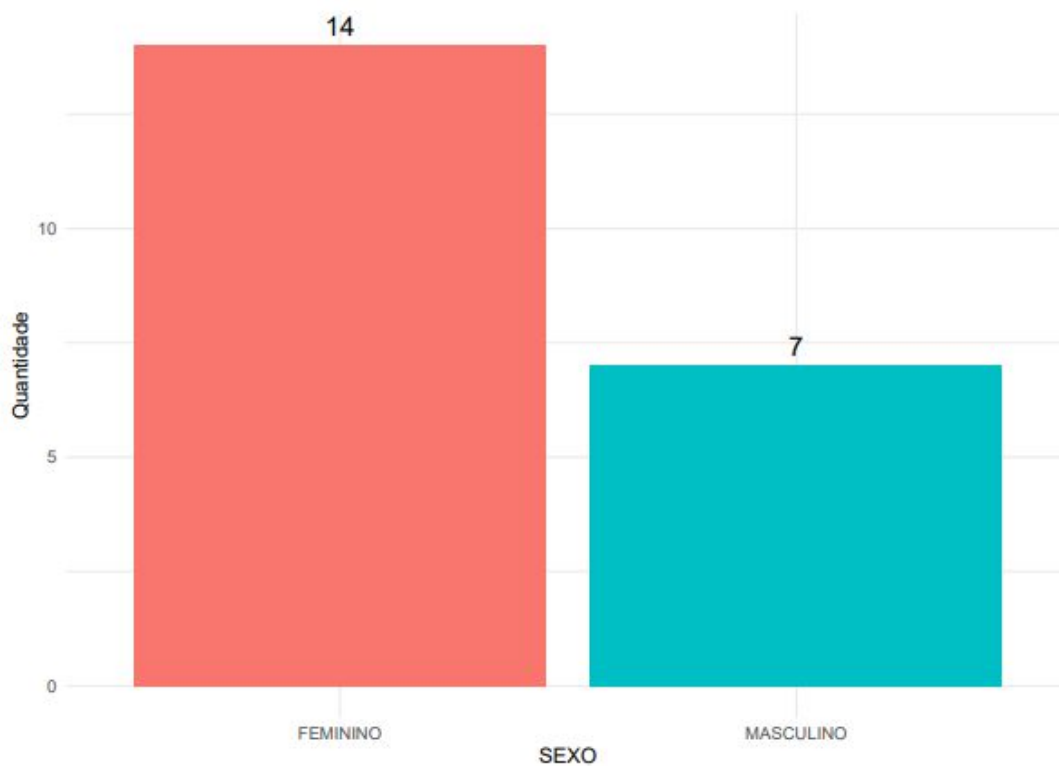


Figura 3: Sexo dos pacientes cujas amostras foram sequenciadas.

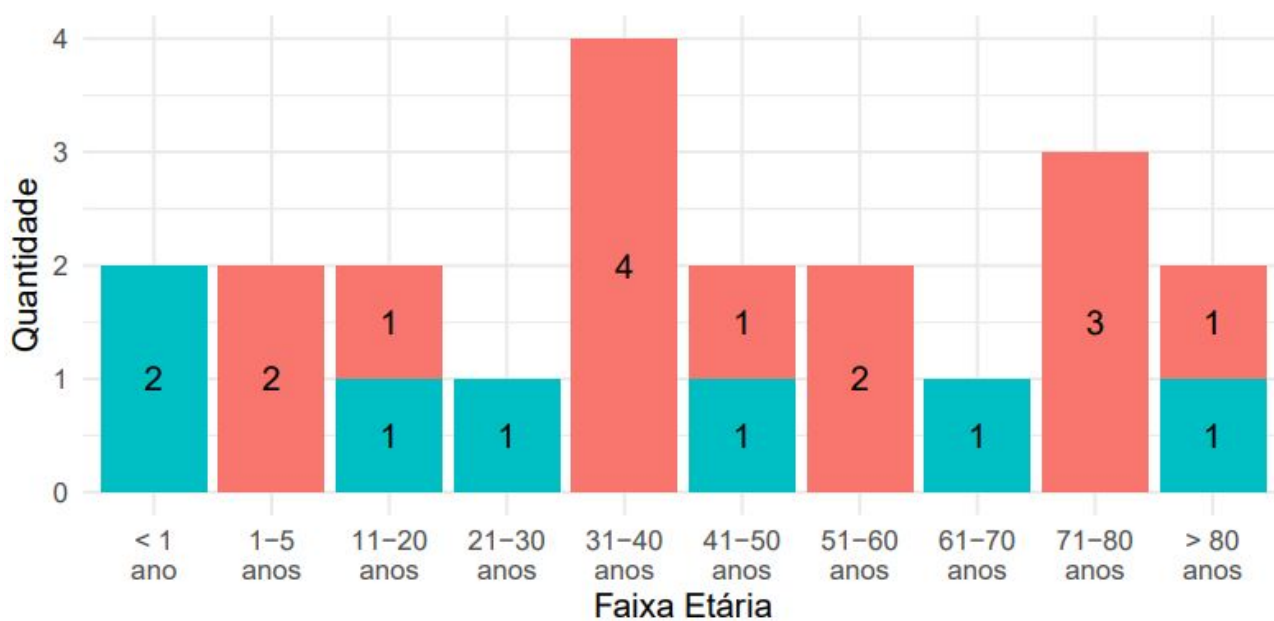


Figura 4: Idade dos pacientes cujas amostras foram sequenciadas.

As cores das barras indicam o sexo dos pacientes, seguindo a mesma legenda da figura 3.

RESULTADOS

Das 21 amostras detectáveis para SARS-CoV-2, 15 apresentaram cobertura superior a 90% do genoma total. Dentre essas, 7 foram classificadas como pertencentes à linhagem JD.1.1.1 de acordo com o Pangolin (Figura 5). Também foram vistas as linhagens JN.1 (4), JD.1.1 (2), JG.3 (1) e GK.1 (1).

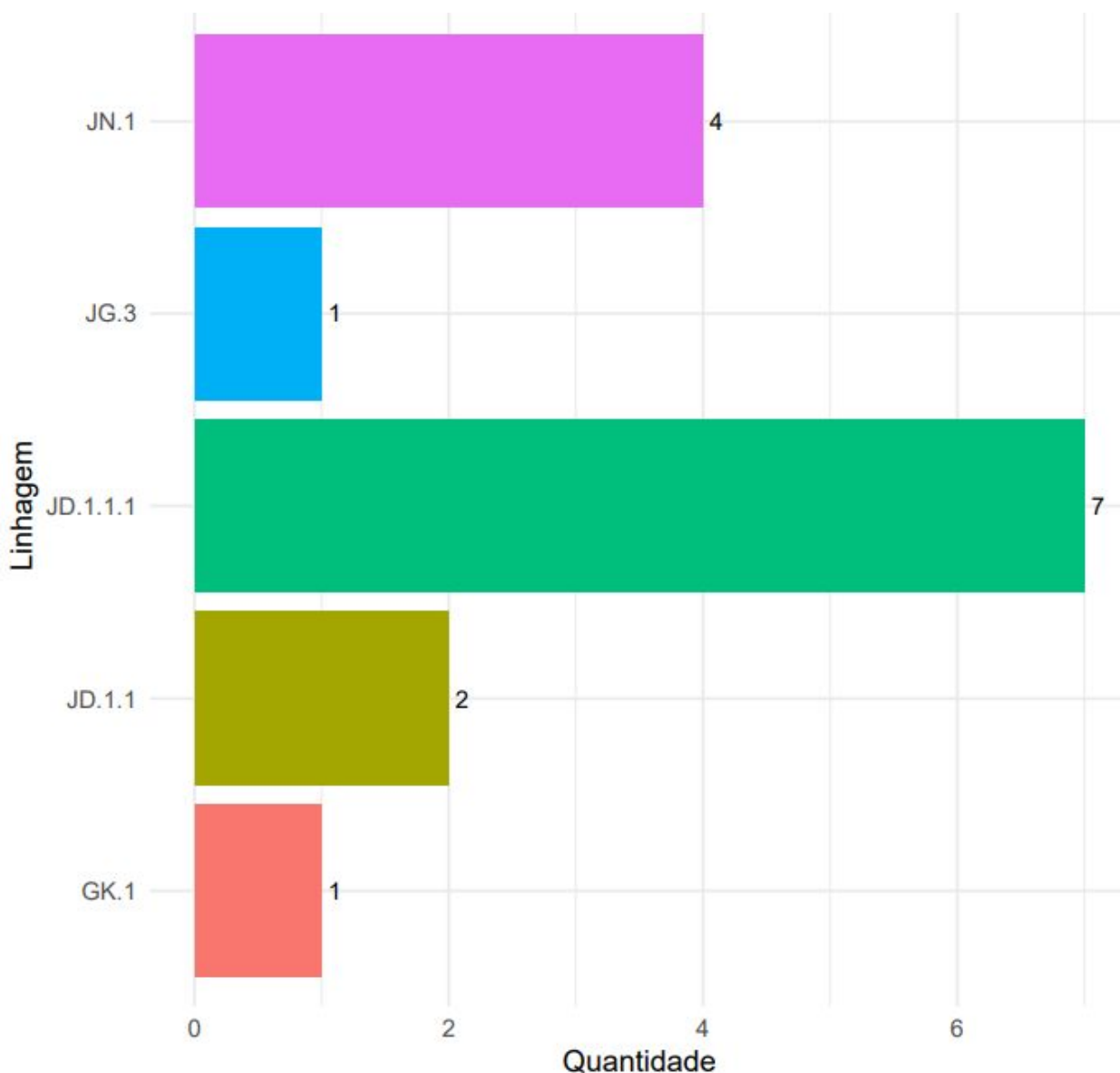


Figura 5: Linhagens identificadas nas amostras sequenciadas em novembro de 2023.

RESULTADOS

A linhagem JD.1.1.1 (vista em 7 amostras) é descendente de JD.1.1 (2 amostras), ambas descendentes de XBB.1.5. JD.1.1.1 tem a mutação de assinatura S:Y248H e foi nomeada em 26 de setembro de 2023 (AVICZHL2, 2023; ROEMER, 2023). Esta foi a subvariante predominante na maioria das semanas epidemiológicas incluídas nesse sequenciamento (Figura 7).

Já JN.1 (4 amostras) é descendente de BA.2.86.1 e carrega as mutações S:L455S, ORF1a:R3821K, ORF7b:F19L e as demais linhagens identificadas descendem ou de XBB.1.5.70 ou de EG.5.

Uma descendente indireta de EG.5 (Éris) é a linhagem JG.3 (1 amostra), que conta com as mutações S:L455F e S:S704L em relação a sua antecessora imediata, EG.5.1.3 (Figura 6). As relações entre as linhagens, suas nomenclaturas e antecessoras podem ser vistas na Figura 6.

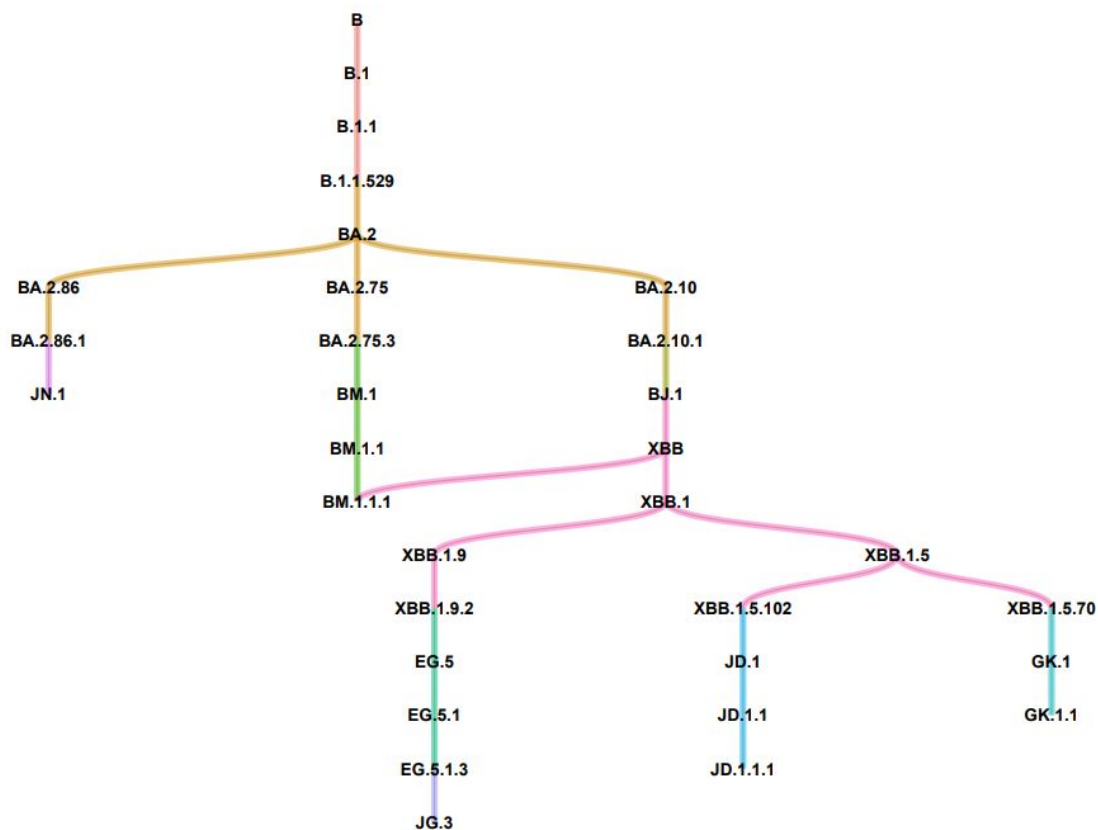


Figura 6: Versão mínima da origem das linhagens identificadas nas amostras sequenciadas em novembro de 2023.

RESULTADOS

O protocolo para a nomeação de linhagens Pangolin (RAMBAUT et al., 2020) atribui um prefixo com letras e sufixo com números. As exceções estão na base da nomenclatura, em há duas sequências: A, representando a sequência Wuhan/WH04/2020 (EPI_ISL_406801) e B a sequência de dezembro de 2019 (Wuhan-Hu-1, MN908947). A partir delas, começa a nomenclatura adicionando sufixos numéricos, por exemplo B.1. Cada ponto no sufixo significa 'descendente de' (por exemplo, B.1.1 e B.1.2 descendem de B.1) e cada sufixo só pode ter até três pontos.

Depois disso, caso haja sequências descendentes, uma nova letra é escolhida para a nomear a nova linhagem e a nova letra passa a ser então um 'apelido' para a linhagem da qual descende diretamente. Ao acabarem as letras de A até Z, combinam-se as letras de AA até AZ, BA ate BZ e assim sucessivamente. (por exemplo, BA é um apelido para B.1.1.529). No caso de variantes recombinantes, a letra X foi reservada para identificá-las. Qualquer variante que inicie com X se trata de uma recombinante, como é o caso de XBB, recombinante de BM.1.1.1 e BJ.1.

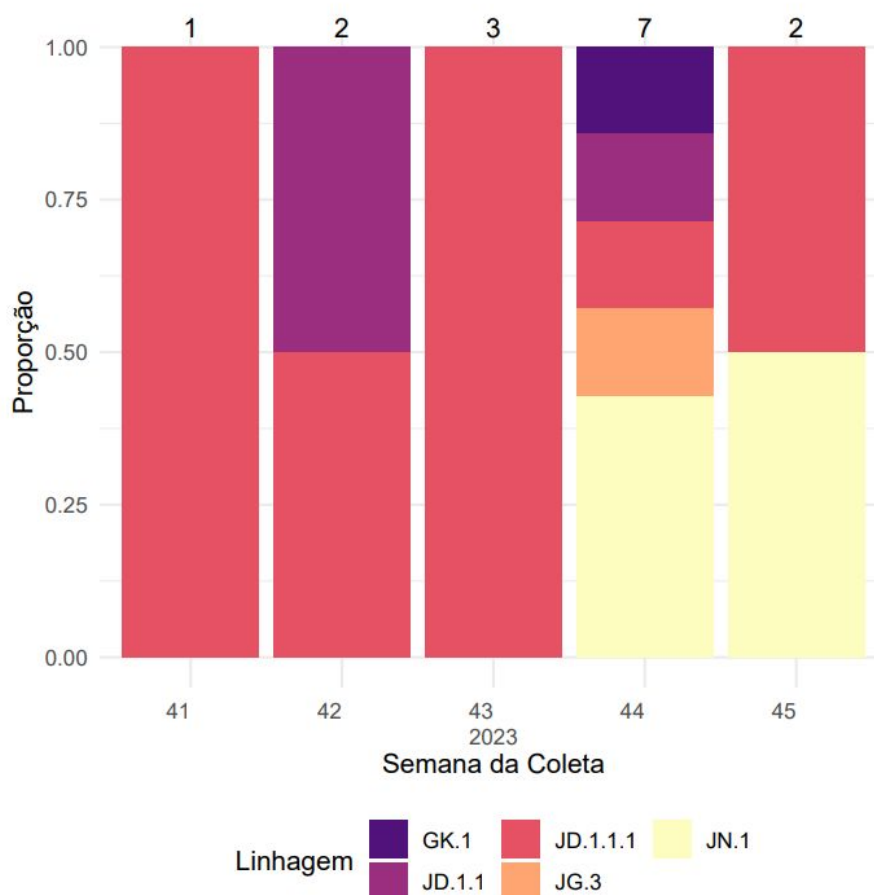


Figura 7: Linhagens identificadas por semana epidemiológica da coleta, Lacen, Ceará.

CONCLUSÃO

Em consonância com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o LACEN-CE está monitorando continuamente as subvariantes da Ômicron (SARS-CoV-2), realizando a vigilância genômica em amostras que contemplam os critérios de elegibilidade para a metodologia.

Nesse sequenciamento, realizado em novembro referente às semanas epidemiológicas 37 a 45 de 2023, foram observadas diversas linhagens ainda não detectadas no Ceará (JD.1.1.1; JN.1; JD.1.1; JG.3 e GK.1).

A JG.3 foi a única descendente da EG.5 detectada nesse sequenciamento. Reiteramos a importância da busca ativa na área onde foi identificada a subvariante JG.3, descendente da EG.5 para melhor entendimento da dispersão desse achado no Estado do Ceará.

Evolução das mutações que originaram a JG.3: XBB.1 > XBB.1.9 > XBB.1.9.2 > EG.5 > EG.5.1 > EG.5.1.3 > JG.3.

A OPAS/OMS orienta que as recomendações para a COVID-19 permanecem inalteradas e instruiu todos os países a continuarem a coletar amostras representativas para sequenciamento genético e a manter a vigilância genômica adequada do SARS-CoV-2, uma vez que esse vírus permanece em circulação, evolução e adaptação.

RECOMENDAÇÕES

- Minimização dos riscos através do uso de máscaras, ventilação de ambientes e higienização das mãos.
- Busca ativa para a conclusão esquema vacinal básico, incluindo a dose de reforço, para todas as idades.
- Mobilização pela continuação do esquema vacinal atualizado com a vacina bivalente.
- Monitoramento contínuo do SARS-CoV2, por meio da testagem por RT-qPCR, independente da utilização de testes imunocromatográficos, pois possibilita a realização da Vigilância Genômica no Estado do Ceará.

Dessa forma, o sequenciamento genético torna-se um instrumento imprescindível para o monitoramento do padrão de circulação das VOCs de SARS-CoV-2, o entendimento da sua dispersão no passado, bem como detecção da introdução de novas sublinhagens no estado do Ceará.

Em parceria com a SESA-CE, o LACEN-CE segue em vigilância genômica investigando os casos suspeitos e realizando busca ativa sobre a dispersão e circulação do SARS-CoV-2 no estado do Ceará por meio de sequenciamento genético.

REFERÊNCIAS

AVICZHL2, X. Z. . JD.1.1+S:Y248H(8 seqs, 8 countries, first sample from traveller from Ethiopia). 2023. Disponível em: <<https://github.com/sars-cov-2-variants/lineage-proposals/issues/864>>.

DEZORDI, F. Z. et al. Viralflo: a versatile automated workflow for sars-cov-2 genome assembly, lineage assignment, mutations and intrahost variant detection. *Viruses*, MDPI, v. 14, n. 2, p. 217, 2022.

RAMBAUT, A. et al. A dynamic nomenclature proposal for sars-cov-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nature microbiology*, Nature Publishing Group, v. 5, n. 11, p. 1403–1407, 2020.

ROEMER, C.-L. C. Designate JD.1.1.1 (XBB.1.5.102.1.1.1, S:Y248H) with 6 seqs. 2023. Disponível em > <<https://github.com/cov-lineages/pangodesignation/commit/1c2e370a4d265264a714efbebabc8360b9bb5c61>>.

TAG-VE, W. T. A. G. o. S.-C.-. V. E. W. Updated working definitions and primary actions for SARS-CoV-2 variants. 2023. [Accessado em: 13 de abril de 2023]. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/16-03-2023-statement-on-theupdate-of-who-s-working-d-efinitions-and-tracking-system-for-sars-cov-2-variantsof-concern-and-variants-of-interest>>

WHO. Statement on the update of WHO's working definitions and tracking system for SARS-CoV-2 variants of concern and variants of interest. 2023. [Accessado em: 13 de abril de 2023]. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/16-03-2023-statement-on-the-update-of-who-s-workin-g-definitions-and-tracking-system-forsars-cov-2-variants-of-concern-and-variants-of-inte-rest>>.



CEARÁ
GOVERNO DO ESTADO
SECRETARIA DA SAÚDE