

Relatório dos resultados parciais referentes ao sequenciamento de nova geração das amostras de SARS-CoV-2 positivas realizado no Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS/SES-RS) de amostras provenientes do Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul

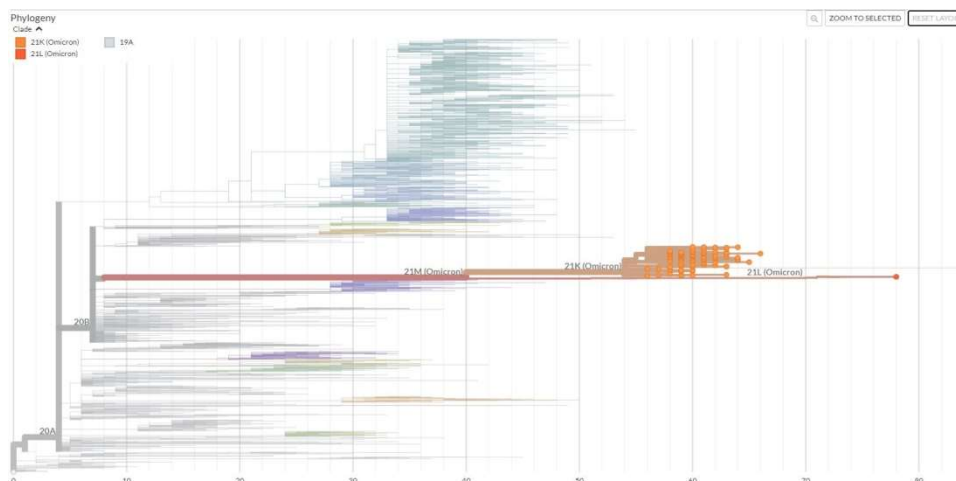
Porto Alegre, 28 de fevereiro de 2022

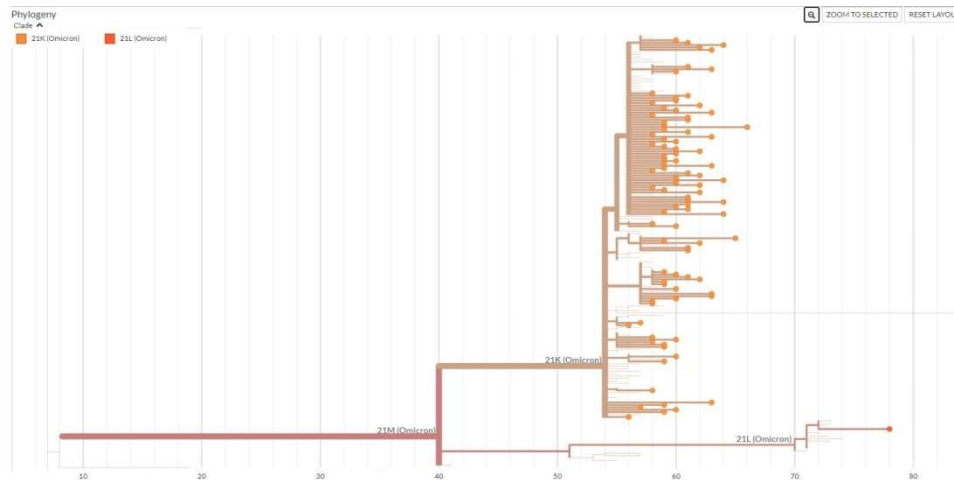
No dia 23 de fevereiro de 2022, a equipe do CEVS realizou o sequenciamento de 96 genomas completos do SARS-CoV-2, provenientes de pacientes com sintomas de covid-19 residentes em 39 diferentes municípios do Rio Grande do Sul (Tabela 1, Figura 1A).

Os genomas sequenciados, utilizando a tecnologia desenvolvida pela Illumina (MiSeq), apresentaram em sua grande maioria cobertura superior a 99% do genoma total (Tabela 1). A escolha das amostras para o sequenciamento foi baseada na representatividade de todas as regiões geográficas do estado do Rio Grande do Sul e foram provenientes de indivíduos com sintomas clínicos característicos e casos de SRAG (Figura 1B).

As amostras selecionadas apresentaram valores de Ct (cycle threshold) que variaram entre 10 e 27 (média= 20). Ao final do sequenciamento foram geradas reads suficientes para análise em 95 amostras. Essas 95 seqüências genômicas do vírus SARS-CoV-2 foram analisadas utilizando a pipeline ViralFlow (Dezordi et al., 2022) e o software Genome Detective - Coronavirus Typing Tool, disponível online (Cleemput et al., 2020) (Figura 1A). No total, 87 amostras resultaram em seqüências com qualidade mínima para condução de análises filogenéticas e foram concatenadas à outras 8 amostras sequenciadas previamente no treinamento fornecido pela empresa Illumina, totalizando 95 amostras analisadas.

A)





B)

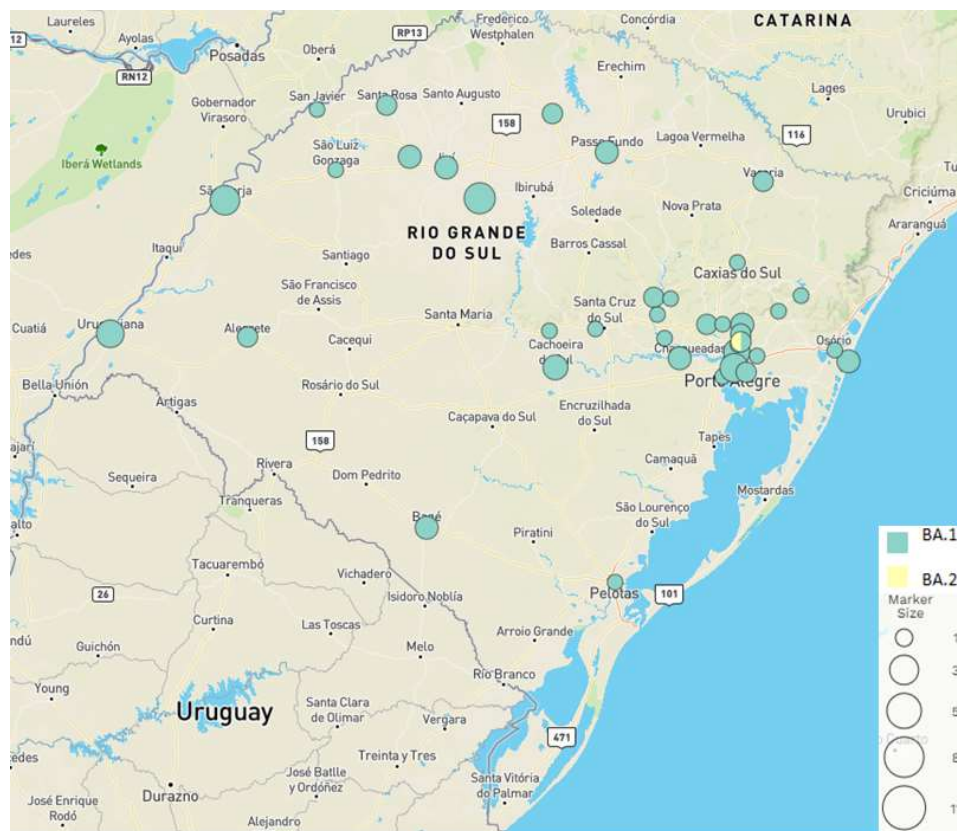


Figura 1. Reconstrução filogenética do SARS-CoV-2 no estado do Rio Grande do Sul. A) Filogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando sequências 95 genômicas isoladas no Rio Grande do Sul e sequências de referência presentes na ferramenta online Nextclade; B) Mapa do estado do Rio Grande do Sul, destacando os municípios onde foram obtidas e caracterizadas as novas sequências genômicas do SARS-CoV-2.

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).

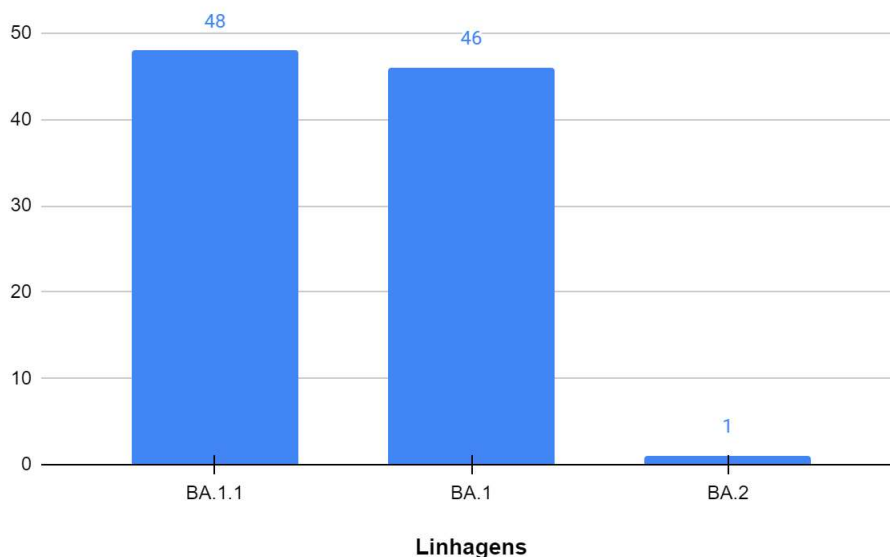


Figura 2. Frequência das linhagens e sub-linhagens do SARS-CoV-2 identificadas nas 95 amostras sequenciadas no estado do Rio Grande do Sul.

Os resultados preliminares demonstraram a diversidade de sublinhagens da variante Ômicron no território gaúcho e ainda identificou a primeira introdução da sublinhagem BA.2 até o momento no Rio Grande do Sul. Tais resultados evidenciam a necessidade da manutenção da vigilância genômica do SARS-CoV-2 no estado visando acompanhar a diversidade genômica das sublinhagens BA.1.x, bem como a dispersão da sublinhagem BA.2.

Referências:

Aksamentov, I., Roemer, C., Hodcroft, E. B., & Neher, R. A., (2021). Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *Journal of Open Source Software*, 6(67), 3773, <https://doi.org/10.21105/joss.03773>.

Dezordi FZ, Neto AMDS, Campos TL, Jeronimo PMC, Aksenon CF, Almeida SP, Wallau GL, On Behalf Of The Fiocruz Covid-Genomic Surveillance Network. *ViralFlow: A Versatile Automated Workflow for SARS-CoV-2 Genome Assembly, Lineage Assignment, Mutations and Intrahost Variant Detection*. *Viruses*. 2022 Jan 23;14(2):217. doi: 10.3390/v14020217. PMID: 35215811; PMCID: PMC8877152.

Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, du Plessis L, Pybus OG. 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.

Sara Cleemput, Wim Dumon, Vagner Fonseca, Wasim Abdool Karim, Marta Giovanetti, Luiz Carlos Alcantara, Koen Deforche, Tulio de Oliveira, *Genome Detective Coronavirus Typing Tool for rapid identification and characterization of novel coronavirus genomes*, *Bioinformatics*, Volume 36, Issue 11, June 2020, Pages 3552–3555, doi: 10.1093/bioinformatics/btaa145.

Tabela 1. Lista das amostras sequenciadas no CEVS

ID Amostra	Ct	Tipo Amostra	Município	Data de Coleta	Início sintomas	Idade	Reads	Cobertura	Profundidade	Linhagens
15856	15	Swab	VIAMAO	2/3/2022		65	1511353	99.96	7038.15	BA.1.1
15960	13	Swab	PASSO FUNDO	2/3/2022	1/2/2022	83	2645619	99.99	12312.19	BA.1
16095	22	Swab	IGREJINHA	2/4/2022		82	1317477	97.92	6222.71	BA.1
16100	15	Swab	URUGUAIANA	2/1/2022	31/01/2022	48	2757222	99.97	12841.11	BA.1.1
16105	28	Swab	CACHOEIRA DO SUL	2/4/2022	2/2/2022	5M	2324128	99.13	10670.2	BA.1.1
16108	25	Swab	TAQUARI	2/3/2022	29/01/2022	49	2045120	99.97	9506.88	BA.1.1
16113	20	Swab	CRUZ ALTA	2/4/2022	2/2/2022	3M	2437400	100.0	11355.1	BA.1
16116	16	Swab	SÃO BORJA	2/4/2022		1	2721141	99.97	12681.33	BA.1.1
17034	21	Swab	VACARIA	2/9/2022	3/2/2022	82	334475	99.43	1559.62	BA.1.1
17037	15	Swab	ALEGRETE	2/10/2022		23	289218	99.74	1372.58	BA.1.1
17063	17	Swab	CANOAS	2/11/2022	8/2/2022	22	422314	99.95	1973.83	BA.1.1
17093	27	Swab	CANOAS	2/10/2022	9/2/2022	81	349126	98.71	1620.64	BA.1.1
17095	13	Swab	CANOAS	2/10/2022	3/2/2022	2M	542338	99.88	2525.15	BA.1.1
17096	16	Swab	CANOAS	2/10/2022	7/2/2022	72	347707	99.46	1628.95	BA.1.1
17103	13	Swab	ESTEIO	2/10/2022	3/2/2022	68	334596	99.91	1566.73	BA.1
17107	22	Swab	SAO JERONIMO	2/11/2022	8/2/2022	63	445866	99.54	2073.45	BA.1.1
17111	13	Swab	SAO JERONIMO	2/11/2022	9/2/2022	83	436817	99.38	2023.84	BA.1
17112	18	Swab	GUAIBA	2/10/2022	5/2/2022	61	397798	99.76	1849.76	BA.1
17117	20	Swab	NOVO HAMBURGO	2/8/2022	2/2/2022	76	434180	99.3	2019.5	BA.1
17118	14	Swab	NOVO HAMBURGO	2/10/2022	6/2/2022	52	484730	99.92	2252.25	BA.1
17121	15	Swab	LAJEADO	2/11/2022		74	453375	99.87	2109.66	BA.1.1
17127	25	Swab	PASSO FUNDO	2/9/2022	26/01/2022	61	113749	98.89	546.17	BA.1
17130	13	Swab	PASSO FUNDO	2/8/2022	1/2/2022	58	398614	99.37	1852.38	BA.1
17132	17	Swab	GRAVATAI	2/10/2022	9/2/2022	1	498420	99.67	2312.25	BA.1.1
17134	17	Swab	TEUTONIA	2/10/2022		93	581338	99.8	2698.38	BA.1.1
17137	22	Swab	TRAMANDAI	2/8/2022	4/2/2022	10M	405046	97.6	1694.9	BA.1
17140	24	Swab	TRAMANDAI	2/10/2022	10/2/2022	10D	710730	99.78	3298.94	BA.1
17169	27	Swab	TEUTONIA	2/10/2022		47	466	34.66	3.37	BA.1
17174	18	Swab	SAO LEOPOLDO	2/10/2022	9/2/2022	43	508062	99.79	2363.66	BA.1.1
17190	22	Swab	CACHOEIRINHA	2/11/2022	8/2/2022	84	46617	92.46	300.22	BA.1

17206	22	Swab	URUGUAIANA	2/7/2022	4/2/2022	1	377181	99.91	1766.83	BA.1.1
17207	27	Swab	URUGUAIANA	2/7/2022	5/2/2022	20	469870	99.72	2182.17	BA.1.1
17211	21	Swab	PORTO ALEGRE	2/10/2022		68	479957	99.73	2218.86	BA.1.1
17212	22	Swab	PORTO ALEGRE	2/10/2022	9/2/2022	32	447437	99.78	2082.62	BA.1
17213	23	Swab	PORTO ALEGRE	2/10/2022	9/2/2022	52	503003	99.78	2336.51	BA.1.1
17214	17	Swab	PORTO ALEGRE	2/10/2022	9/2/2022	51	479675	99.94	2229.51	BA.1.1
17228	27	Swab	URUGUAIANA	2/11/2022	11/2/2022	60	400556	99.43	1865.66	BA.1.1
17237	21	Swab	URUGUAIANA	2/11/2022	11/2/2022	38	365754	98.8	1705.57	BA.1.1
17260	23	Swab	MONTENEGRO	2/11/2022	10/2/2022	44	451228	99.78	2096.13	BA.1.1
17261	20	Swab	SAO BORJA	2/11/2022		89	469076	99.83	2172.59	BA.1.1
17262	20	Swab	VERA CRUZ	2/9/2022	6/2/2022	61	456356	99.86	2119.82	BA.1
17269	21	Swab	BAGE	2/11/2022	7/2/2022	7	459351	99.87	2132.46	BA.1.1
17270	27	Swab	SAO BORJA	2/11/2022		75	306126	92.6	1339.2	BA.1
17271	25	Swab	SAO BORJA	2/11/2022	31/01/2022	77	458720	99.63	2129.17	BA.1.1
17274	18	Swab	SANTA ROSA	2/11/2022	9/2/2022	33	217796	99.89	1011.75	BA.1.1
17276	15	Swab	SANTA ROSA	2/11/2022	9/2/2022	41	255144	99.51	1190.31	BA.1.1
17279	25	Swab	CRUZ ALTA	2/11/2022	8/2/2022	84	429062	99.67	1991.9	BA.1
17280	25	Swab	CRUZ ALTA	2/11/2022	6/2/2022	21	505624	99.93	2343.33	BA.1
17286	26	Swab	SAPUCAIA DO SUL	2/10/2022	5/2/2022	1	447242	99.21	2072.11	BA.1
17303	22	Swab	BOM RETIRO DO SUL	2/9/2022	7/2/2022	30	543443	99.82	2520.61	BA.1.1
17304	22	Swab	PELOTAS	2/10/2022	7/2/2022	35	416132	99.72	1942.28	BA.1
17323	23	Swab	SAO LEOPOLDO	2/10/2022	10/2/2022	20	419273	98.6	1751.1	BA.1
17338	21	Swab	CAXIAS DO SUL	2/10/2022		32	438270	99.85	2037.6	BA.1
CDCT3190	22	Swab	ALEGRETE	1/25/2022		90	446817	99.47	2076.49	BA.1.1
16574	22	Swab	CRUZ ALTA	2/8/2022	5/2/2022	85	408795	98.9	1897.7	BA.1.1
16586	22	Swab	SARANDI	2/8/2022	4/2/2022	81	448109	99.86	2075.29	BA.1
115	27	Swab	PORTO ALEGRE	1/4/2022	1/1/2022	22	125251	85.38	760.05	BA.1.1
6566	17	Swab	PORTO ALEGRE	1/17/2022		57	400336	99.82	1831.38	BA.1
17930	23	Swab	SAO BORJA	2/17/2022	16/02/2022	1M	374770	99.26	1716.89	BA.1
17931	18	Swab	SAO BORJA	2/17/2022		82	408160	99.92	1868.33	BA.1.1
17964	27	Swab	CRUZ ALTA	2/17/2022	15/02/2022	7M	381647	99.46	1762.6	BA.1
17965	15	Swab	CRUZ ALTA	2/17/2022	13/02/2022	90	420555	99.94	1917.34	BA.1.1
17966	20	Swab	IJUI	2/17/2022	14/02/2022	1	436876	99.34	2004.35	BA.1.1

17968	22	Swab	SAO LUIZ GONZAGA	2/17/2022	10/2/2022	68	351718	99.34	1614.04	BA.1
17970	25	Swab	ESTRELA	2/17/2022	10/2/2022	80	42894	81.88	278.69	BA.1
17973	22	Swab	SAO FRANCISCO DE PAULA	2/17/2022	13/02/2022	74	292257	98.61	1340.48	BA.1
17974	21	Swab	SARANDI	2/16/2022	6/2/2022	66	417596	99.84	1908.18	BA.1.1
17975	12	Swab	LAJEADO	2/17/2022	10/2/2022	81	356199	99.3	1630.8	BA.1.1
17977	20	Swab	NOVO CABRAIS	2/16/2022	12/2/2022	10M	415039	99.18	1926.67	BA.1.1
17978	16	Swab	PORTO XAVIER	2/16/2022	11/2/2022	56	803640	99.91	3673.62	BA.1.1
17980	17	Swab	VACARIA	2/17/2022	10/2/2022	1	249150	98.36	1148.86	BA.1
17982	26	Swab	ENCANTADO	2/17/2022	6/2/2022	76	256541	92.64	1204.55	BA.1
18156	15	Swab	CRUZ ALTA	2/20/2022	16/02/2022	73	293142	98.09	1346.66	BA.1
17986	23	Swab	IJUI	2/16/2022	2/2/2022	97	394126	99.51	1807.93	BA.1
17999	24	Swab	OSORIO	2/16/2022	12/2/2022	79	324774	99.46	1483.66	BA.1
18001	13	Swab	SAPUCAIA DO SUL	2/17/2022	12/2/2022	67	384346	99.81	1760.6	BA.2
18004	26	Swab	MONTENEGRO	2/17/2022	17/02/2022	58	275693	98.01	1261.28	BA.1.1
18009	16	Swab	OSORIO	2/17/2022	11/2/2022	83	no reads	no reads	no reads	no reads
18020	25	Swab	CANOAS	2/17/2022	12/2/2022	3	354007	98.78	1618.95	BA.1
18021	20	Swab	VIAMAO	2/17/2022	15/02/2022	77	497104	99.96	2272.55	BA.1.1
18022	25	Swab	PORTO ALEGRE	2/18/2022	18/02/2022	71	279228	98.78	1318.18	BA.1.1
18024	26	Swab	URUGUAIANA	2/10/2022	7/2/2022	40	423085	98.9	1718.8	BA.1.1
18026	20	Swab	CAPELA DE SANTANA	2/17/2022	14/02/2022	24	358667	99.59	1639.5	BA.1.1
18027	23	Swab	TRAMANDAI	2/17/2022	17/02/2022	2	336038	99.31	1536.54	BA.1
18034	26	Swab	PORTO ALEGRE	2/18/2022		21	437045	99.43	2000.21	BA.1
18040	10	Swab	NOVO HAMBURGO	2/17/2022	17/02/2022	88	253400	98.15	1172.61	BA.1
18043	14	Swab	SAO JERONIMO	2/18/2022	15/02/2022	73	462946	99.47	2116.08	BA.1.1
18053	27	Swab	URUGUAIANA	2/18/2022	18/02/2022	49	9236	68.32	375.56	BA.1
18082	17	Swab	CACHOEIRA DO SUL	2/18/2022	17/02/2022	11M	288266	99.17	1316.61	BA.1
18084	14	Swab	CRUZ ALTA	2/18/2022	15/02/2022	59	403394	99.89	1846.08	BA.1.1
18085	16	Swab	CACHOEIRA DO SUL	2/17/2022	15/02/2022	10M	482750	99.75	2207.26	BA.1.1
18086	14	Swab	CACHOEIRA DO SUL	2/17/2022	17/02/2022	1	401425	99.51	1838.45	BA.1
18089	21	Swab	CRUZ ALTA	2/18/2022	12/2/2022	63	392765	99.26	1805.09	BA.1
18091	11	Swab	BAGE	2/18/2022	15/02/2022	32	396293	99.89	1809.14	BA.1
18092	10	Swab	BAGE	2/18/2022	15/02/2022	42	383141	99.91	1750.6	BA.1
18093	15	Swab	CRUZ ALTA	2/18/2022	17/02/2022	77	457546	99.33	2086.18	BA.1
18094	21	Swab	CRUZ ALTA	2/18/2022	9/2/2022	77	204134	93.36	971.57	BA.1.1

18097	13	Swab	SANTO ANGELO	2/18/2022	18/02/2022	86	365884	99.66	1669.96	BA.1
18098	24	Swab	IJUI	2/18/2022	17/02/2022	61	251376	98.42	1164.58	BA.1
18099	17	Swab	SAO BORJA	2/18/2022	15/02/2022	1	348177	99.81	1589.15	BA.1
18100	18	Swab	SAO BORJA	2/18/2022	17/02/2022	85	425145	99.68	1941.84	BA.1.1
18123	20	Swab	SANTO ANGELO	2/18/2022	18/02/2022	68	452692	99.72	2062.63	BA.1
18125	28	Swab	SANTO ANGELO	2/18/2022	18/02/2022	73	236490	98.15	1101.04	BA.1
14468	15	Swab	PORTO ALEGRE	2/1/2022	30/01/2022	38	445425	92.07	2192.99	BA.1