

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, 27 de abril de 2022

Recentemente detectamos um caso de recombinação entre as variantes Delta e Ômicron do SARS-CoV-2, classificado de acordo com o sistema de classificação Pangolin como **linhagem XS** (<https://cov-lineages.org/lineage.html?lineage=XS>). O surgimento de recombinantes pode acontecer quando diferentes variantes do vírus SARS-CoV-2 infectam um mesmo indivíduo simultaneamente, permitindo que essas variantes interajam durante a replicação, misturando assim o seu material genético e formando novas combinações.

Esse é o **primeiro caso identificado no Brasil** de recombinação entre duas Variantes de Preocupação (VOC) distintas. A amostra proveniente de uma paciente de Cruz Alta/RS, com data de coleta em 11/02/2022, foi sequenciada no CEVS/SES-RS utilizando a plataforma Illumina, como parte da Rede Nacional de Sequenciamento Genético para Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde. Após a condução de análises no CEVS e a identificação do caso de recombinação, a amostra foi encaminhada para o Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo da FIOCRUZ/RJ onde a amostra foi sequenciada outra vez e apresentou resultado concordante.

Dada a necessidade de ampliação da vigilância genômica na região, a fim de elucidar se o caso identificado representava um evento isolado, ou se existiam cadeias sustentadas de transmissão da variante recombinante, no dia 14 de abril de 2022, a equipe do CEVS realizou o sequenciamento de 45 genomas completos do SARS-CoV-2, provenientes de pacientes com sintomas de covid-19 residentes em três diferentes municípios do Rio Grande do Sul: Cruz Alta (42), Selbach (2) e Santa Barbara do Sul (1) (Tabela 1, Figura 1A). Os genomas foram sequenciados utilizando a tecnologia desenvolvida pela Illumina (MiSeq) e apresentaram em sua grande maioria cobertura superior a 98% do genoma total (Tabela 1).

As amostras selecionadas apresentaram valores de Ct (cycle threshold) que variaram entre 12 e 30 (média= 20). Ao final do sequenciamento foram geradas reads suficientes para análise em 45 amostras. Essas 45 sequências genômicas do vírus SARS-CoV-2 foram analisadas utilizando a pipeline ViralFlow v0.0.6 (Dezordi et al., 2022) (Figura 1A). No total, 43 amostras resultaram em sequências com qualidade mínima para condução de análises filogenéticas e determinação da linhagem do SARS-CoV-2.

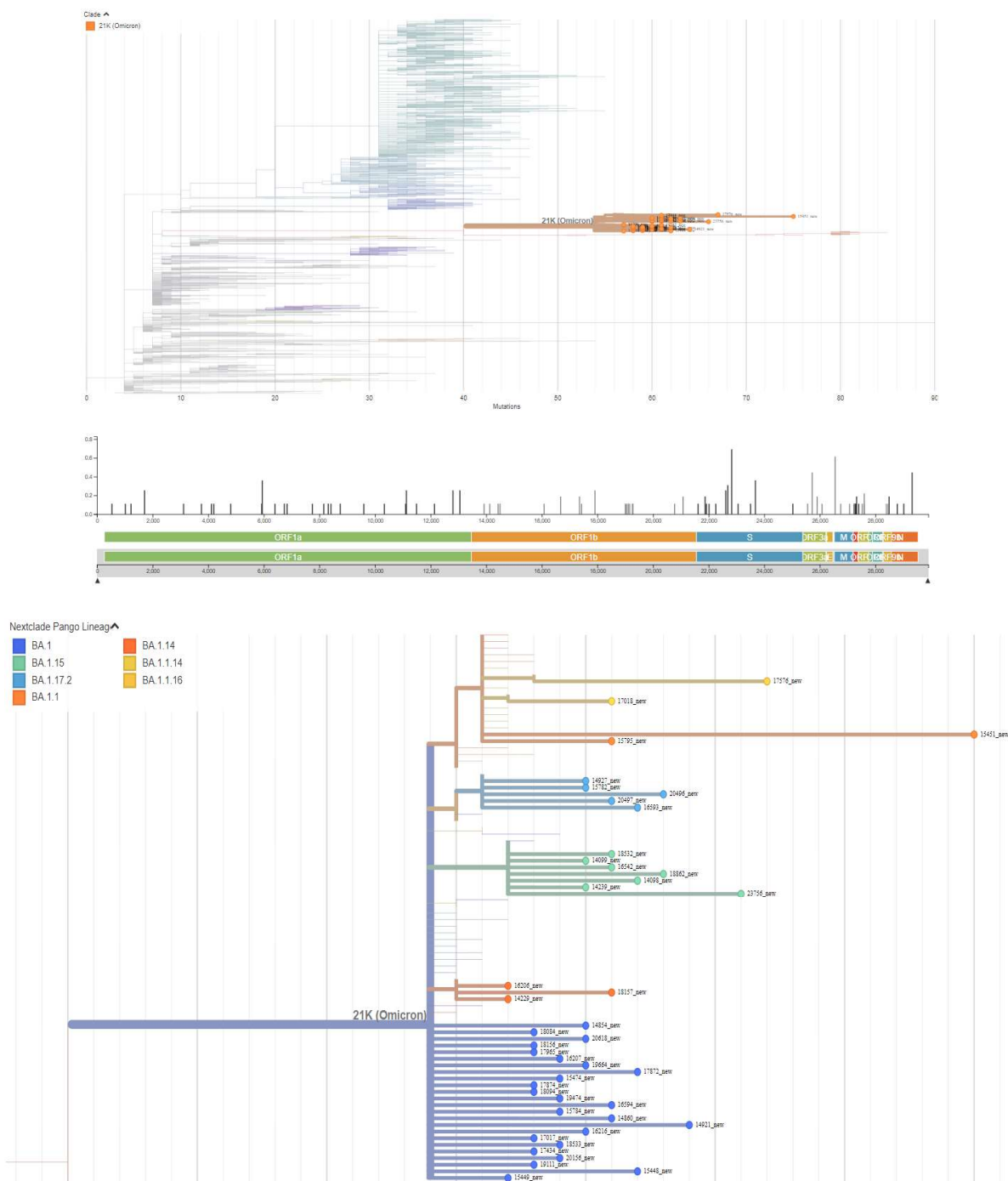


Figura 1. Reconstrução filogenética do SARS-CoV-2 na região de Cruz Alta no estado do Rio Grande do Sul. Filogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando 43 sequências genômicas isoladas no Rio Grande do Sul e sequências de referência presentes na ferramenta online Nextclade (<https://clades.nextstrain.org/>).

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).

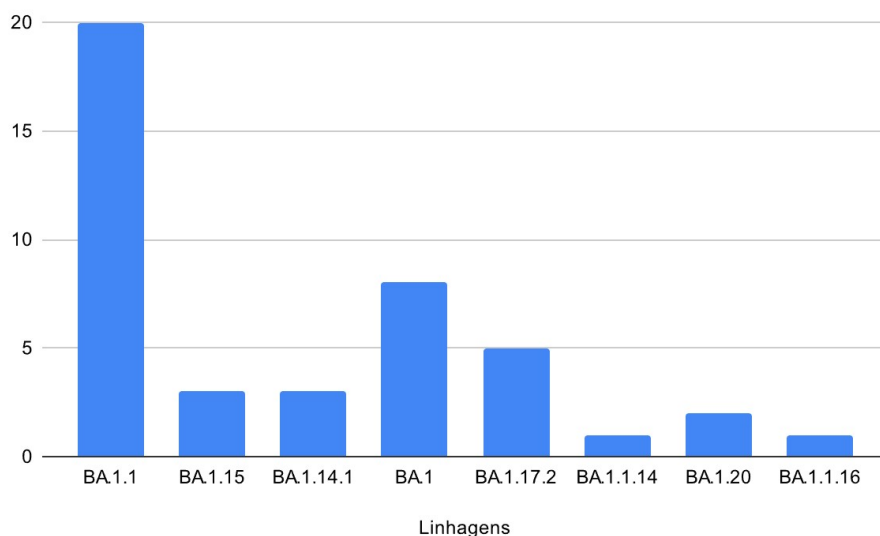


Figura 2. Frequência das linhagens e sub-linhagens do SARS-CoV-2 identificadas nas 43 amostras sequenciadas no estado do Rio Grande do Sul.

Os resultados demonstraram uma importante diversidade entre as sequências da sublinhagem BA.1 da variante Ômicron na região de Cruz Alta, bem como o predomínio absoluto dessa variante que substituiu a variante Delta que antes circulava no Rio Grande do Sul. A presente análise não detectou casos adicionais de recombinação entre diferentes variantes ou linhagens. No entanto, a coleta de amostras e o encaminhamento destas para o Laboratório Central do Estado devem ser intensificados, a fim de melhorar o processo de vigilância genômica e rastrear possíveis eventos de variações genômicas de interesse ocorrendo na região.

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, Aksenov 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.

Tabela 1. Lista das amostras sequenciadas no CEVS

ID Amostra	Requisição GAL	Ct	Tipo Amostra	Município	Data de Coleta	Idade	Reads	Cobertura (%)	Profundidade	Linhagem	QC
14854	220101000899	19	Swab	SELBACH	31/01/2022	88	883697	99,86	4032,58	BA.1.1	OK
18084	220101000935	14	Swab	CRUZ ALTA	18/02/2022	59	852028	99,48	3904,42	BA.1.1	OK
17019	220101000919	29	Swab	CRUZ ALTA	10/02/2022	28	43267	87,12	475,39	NI	bad
18156	220101000937	15	Swab	CRUZ ALTA	20/02/2022	73	845901	99,17	3870,07	BA.1.1	OK
20618	220101000940	16	Swab	CRUZ ALTA	11/03/2022	72	832141	99,61	3808,67	BA.1.1	OK
14099	220101000896	12	Swab	CRUZ ALTA	28/01/2022	79	860475	99,88	3914,96	BA.1.15	OK
17965	220101000934	15	Swab	CRUZ ALTA	17/02/2022	90	687766	99,64	3153,68	BA.1.1	OK
16206	220101000911	28	Swab	CRUZ ALTA	04/02/2022	50	721894	98,93	3295,48	BA.1.14.1	OK
18532	220101000925	22	Swab	CRUZ ALTA	21/02/2022	71	712495	99,61	3270,51	BA.1	OK
18157	220101000924	20	Swab	CRUZ ALTA	18/02/2022	79	602615	99,39	2765,52	BA.1.14.1	OK
16542	220101000931	28	Swab	CRUZ ALTA	08/02/2022	81	569469	99,7	2636,56	BA.1.15	OK
16207	220101000912	22	Swab	CRUZ ALTA	06/02/2022	84	479653	98,34	2210,75	BA.1.1	OK
19664	220101000930	30	Swab	CRUZ ALTA	03/03/2022	32	614574	98,59	2870,87	BA.1	OK
14927	220101000902	27	Swab	CRUZ ALTA	31/01/2022	61	419342	98,61	1933,1	BA.1.17.2	OK
17018	220101000918	21	Swab	CRUZ ALTA	10/02/2022	3	567968	99,42	2601,71	BA.1.1.14	OK
18862	220101000926	12	Swab	CRUZ ALTA	24/02/2022	44	916230	99,72	4193,56	BA.1	OK
17872	220101000922	20	Swab	CRUZ ALTA	16/02/2022	53	461469	98,59	2134,04	BA.1.1	OK
15474	220101000906	19	Swab	CRUZ ALTA	01/02/2022	69	493701	99,58	2275	BA.1	OK
17874	220101000923	20	Swab	CRUZ ALTA	16/02/2022	4M	470960	98,5	2147,5	BA.1.1	OK
14098	220101000895	17	Swab	CRUZ ALTA	28/01/2022	4	668582	99,73	3075,94	BA.1.15	OK
14239	220101000898	25	Swab	CRUZ ALTA	29/01/2022	39	523000	99,25	2438,17	BA.1	OK
15782	220101000907	25	Swab	CRUZ ALTA	03/02/2022	80	312545	96,41	1436,58	BA.1.17.2	OK
18094	220101000936	21	Swab	CRUZ ALTA	18/02/2022	77	312247	97,41	1464,02	BA.1.1	OK
19474	220101000929	28	Swab	CRUZ ALTA	02/03/2022	65	563566	98,12	2567,88	BA.1.1	OK
16594	220101000915	13	Swab	CRUZ ALTA	08/02/2022	91	766024	99,55	3509,65	BA.1.1	OK
15784	220101000908	17	Swab	CRUZ ALTA	03/02/2022	68	654894	99,08	3001,05	BA.1.20	OK
14860	220101000900	25	Swab	SELBACH	31/01/2022	42	608480	99,56	2787,88	BA.1.1	OK
17576	220101000921	29	Swab	CRUZ ALTA	14/02/2022	6M	130824	96,34	895,67	BA.1.1.16	OK
20496	220101000938	21	Swab	CRUZ ALTA	10/03/2022	48	534672	99,42	2470,97	BA.1.17.2	OK
14921	220101000901	25	Swab	CRUZ ALTA	31/01/2022	40	116984	93,88	700,08	BA.1	OK

20497	220101000939	22	Swab	CRUZ ALTA	10/03/2022	80	780821	99,18	3575,89	BA.1.17.2	OK
16216	220101000913	17	Swab	CRUZ ALTA	04/02/2022	68	899666	99,68	4118,73	BA.1.1	OK
17017	220101000916	13	Swab	CRUZ ALTA	10/02/2022	61	690918	98,51	3166,26	BA.1.1	OK
23756	220101000917	15	Swab	CRUZ ALTA	08/04/2022	66	747636	99,8	3422,32	BA.1	OK
14229	220101000897	21	Swab	CRUZ ALTA	30/01/2022	57	659732	99,73	3022,05	BA.1.14.1	OK
18533	220101000932	24	Swab	CRUZ ALTA	22/02/2022	73	1601217	99,85	7343,93	BA.1	OK
20156	220101000927	28	Swab	CRUZ ALTA	07/03/2022	67	475102	98,74	2194,55	BA.1.1	OK
17434	220101000920	20	Swab	CRUZ ALTA	13/02/2022	51	390138	98,82	1804,8	BA.1.1	OK
16593	220101000914	18	Swab	CRUZ ALTA	08/02/2022	6M	671455	99,69	3071,73	BA.1.17.2	OK
19111	220101000928	15	Swab	SANTA BARBARA DO SUL	27/02/2022	92	785440	99,8	3599,58	BA.1.1	OK
15795	220101000909	24	Swab	CRUZ ALTA	03/02/2022	2	262426	95,98	1285,48	BA.1.1	OK
15451	220101000905	27	Swab	CRUZ ALTA	01/02/2022	56	203726	95,39	999,94	BA.1.1	OK
15448	220101000903	15	Swab	CRUZ ALTA	01/02/2022	92	657315	99,05	3032,72	BA.1.1	OK
15808	220101000910	25	Swab	CRUZ ALTA	03/02/2022	1	187551	91,37	1148,11	NI	bad
15449	220101000904	21	Swab	CRUZ ALTA	01/02/2022	1	556817	99,6	2569,68	BA.1.20	OK