

Boletim Informativo

SEQUENCIAMENTO SARS-CoV-2



Edição nº 7/2022



Estado da Bahia

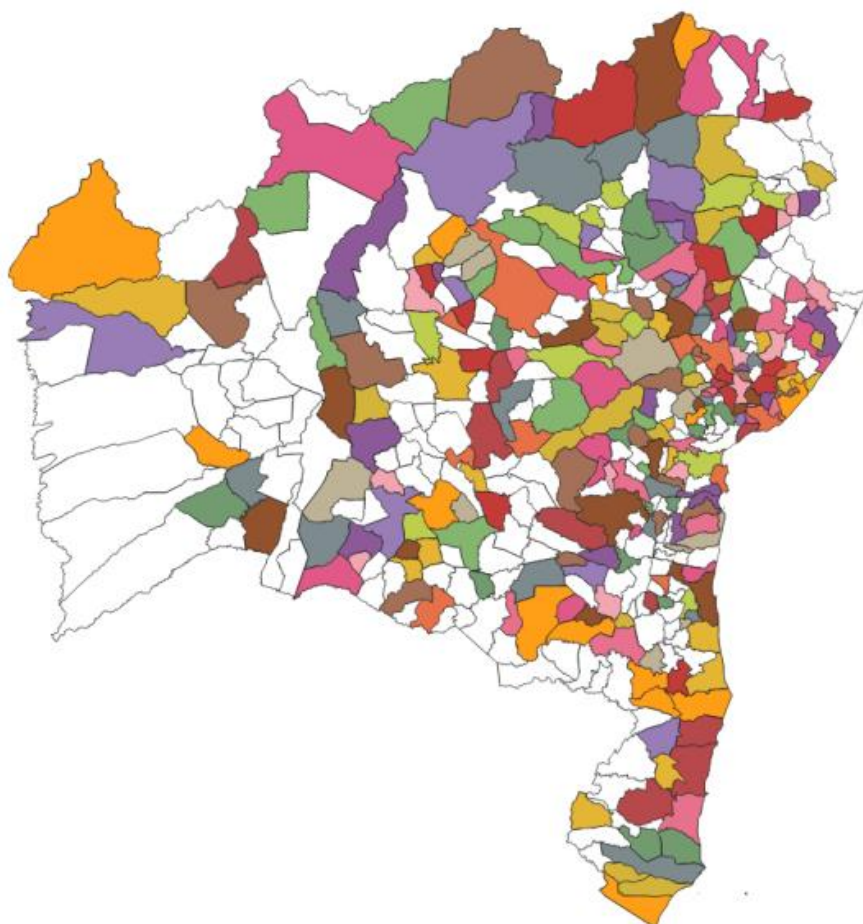
SECRETARIA
DA SAÚDE

Relatório dos resultados parciais referente ao sequenciamento de nova geração das amostras de SARS-CoV-2 positivas realizado no Laboratório Central de Saúde Pública Profº Gonçalo Moniz – LACEN/BA

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Durante o ano de 2022, o LACEN/BA realizou o sequenciamento genético de **1.362 genomas completos do SARS-CoV-2** de amostras provenientes de diversas cidades dos nove Núcleos Regionais de Saúde da Bahia: Sul (9,8%), Leste (26,3%), Norte (5,4%), Sudoeste (5,5%), Oeste (1,8%), Nordeste (12,7%), Centro-Norte (3,6%), Centro-Leste (31,6%) e Extremo Sul (3,3%) (Figura 1).

Figura 1. Municípios com sequências genômicas do SARS-CoV-2 no ano de 2022, Bahia, Brasil.



Fonte: Gal Bahia

As amostras sequenciadas atenderam aos seguintes critérios: suspeitas e/ou contatos de VOC (do inglês, *Variants of concern*, variantes de preocupação/atenção) e VOI (do inglês, *Variants of interest*, variantes de interesse) informados pela vigilância; surtos, tripulantes de navio, casos que evoluíram para óbitos; casos de COVID-19 que se agravaram rapidamente; amostras com alta carga viral; além de pacientes com diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 com histórico de viagem para região de circulação de variantes de atenção. Salientamos que o acompanhamento de casos com e sem histórico de viagem é de fundamental importância para investigar tanto a dispersão de variantes existentes, quanto à introdução de novas variantes.

Todos os genomas gerados no período foram sequenciados com tecnologia de sequenciamento de nova geração e apresentaram em sua maioria cobertura superior a 99% do genoma total. Destes, 785 genomas foram sequenciados no equipamento Ion Genestudio S5 Plus da Thermo Fisher Scientific, 22 genomas foram obtidos utilizando a tecnologia de sequenciamento por nanoporos com o sequenciador portátil MinION e 555 genomas através da Tecnologia Illumina no equipamento MiSeq.

Para identificação das linhagens todas as sequências foram analisadas utilizando o Genome Detective (Visker et al, 2019; Cleemput et al, 2020), que realiza a análise de qualidade (Fastqc) e edição dos *reads* (Trimmomatic), seguida da montagem da sequência consenso do vírus utilizando as abordagens *de novo assembly* e mapeamento para referência. Em seguida, estas sequências foram curadas e submetidas a análise pelo *NextClade* (Aksamentov et al, 2021) e Pangolin (O'Toole et al, 2021) para determinação da linhagem do SARS-CoV-2 (Rambaut et al, 2020). Todas as sequências geradas pelo LACEN/BA, foram classificados e a frequência das linhagens estão descritas na **Tabela 1**.

No dia 28 de dezembro de 2022 foi realizada a rodada de sequenciamento número 43. Nesta rodada foi incluído um controle negativo, conforme orientação da NOTA TÉCNICA Nº 114/2022-CGLAB/DAEVS/SVS/MS, e os resultados foram satisfatórios. Foram analisadas 63 amostras, incluindo quatro amostras provenientes de pacientes que foram a óbito, entretanto uma destas amostras não obteve *reads* suficientes para montagem do genoma. Nesta rodada foram identificadas majoritariamente amostras da linhagem BQ.1 e suas sublinhagens, correspondendo a 54 amostras das 62 que possuíam alta qualidade (87,1%). Adicionalmente, cinco amostras foram classificadas como BA.5.3.1, uma como BE.9, uma como DL.1 e uma como XBB.1, esta última do município de Campo Formoso. As sequências das três amostras de pacientes que vieram a óbito foram classificadas como da linhagem BQ.1 e suas sublinhagens, e eram provenientes de Anguera, Conceição do Jacuípe e Abaré.

Tabela 1. Frequência das linhagens e sublinhagens do Sars-CoV-2 identificadas durante o ano de 2022 pelo LACEN/BA no estado da Bahia.

Linhagem	Sublinhagem	n	%
AY	AY.34.1	5	0,367%
	AY.42	1	0,073%
	AY.43	9	0,661%
	AY.46.3	1	0,073%
	AY.99.2	33	2,423%
B.1	B.1	1	0,073%
	B.1.1	4	0,294%
BA.1	BA.1	397	29,148%
	BA.1.1	302	22,173%
	BA.1.13	1	0,073%
	BA.1.14	74	5,433%
	BA.1.15	66	4,846%
	BA.1.17.2	5	0,367%
	BA.1.5	1	0,073%
	BA.1.9	4	0,294%
BA.2	BA.2	12	0,881%
	BA.2.12.1	1	0,073%
	BA.2.81	1	0,073%
	BA.2.9	2	0,147%
BA.4	BA.4	14	1,028%
	BA.4.1	8	0,587%
	BA.4.6	18	1,322%
BA.5	BA.5	2	0,147%
	BA.5.1	49	3,598%
	BA.5.2	46	3,377%
	BA.5.3	28	2,056%
BE.1	BE.1	1	0,073%
BE.9	BE.9	6	0,441%
BF.12	BF.12	2	0,147%
BF.33	BF.33	1	0,073%
BQ.1	BQ.1	58	4,258%
	BQ.1.1	39	2,863%
	BQ.1.22	154	11,307%
	BQ.1.3	1	0,073%
DL.1	DL.1	3	0,220%
XF	XF	2	0,147%
XBB	XBB	1	0,073%
	XBB.1	3	0,220%
	XBB.2	1	0,073%
Não identificada	-	5	0,367%
Total		1362	100

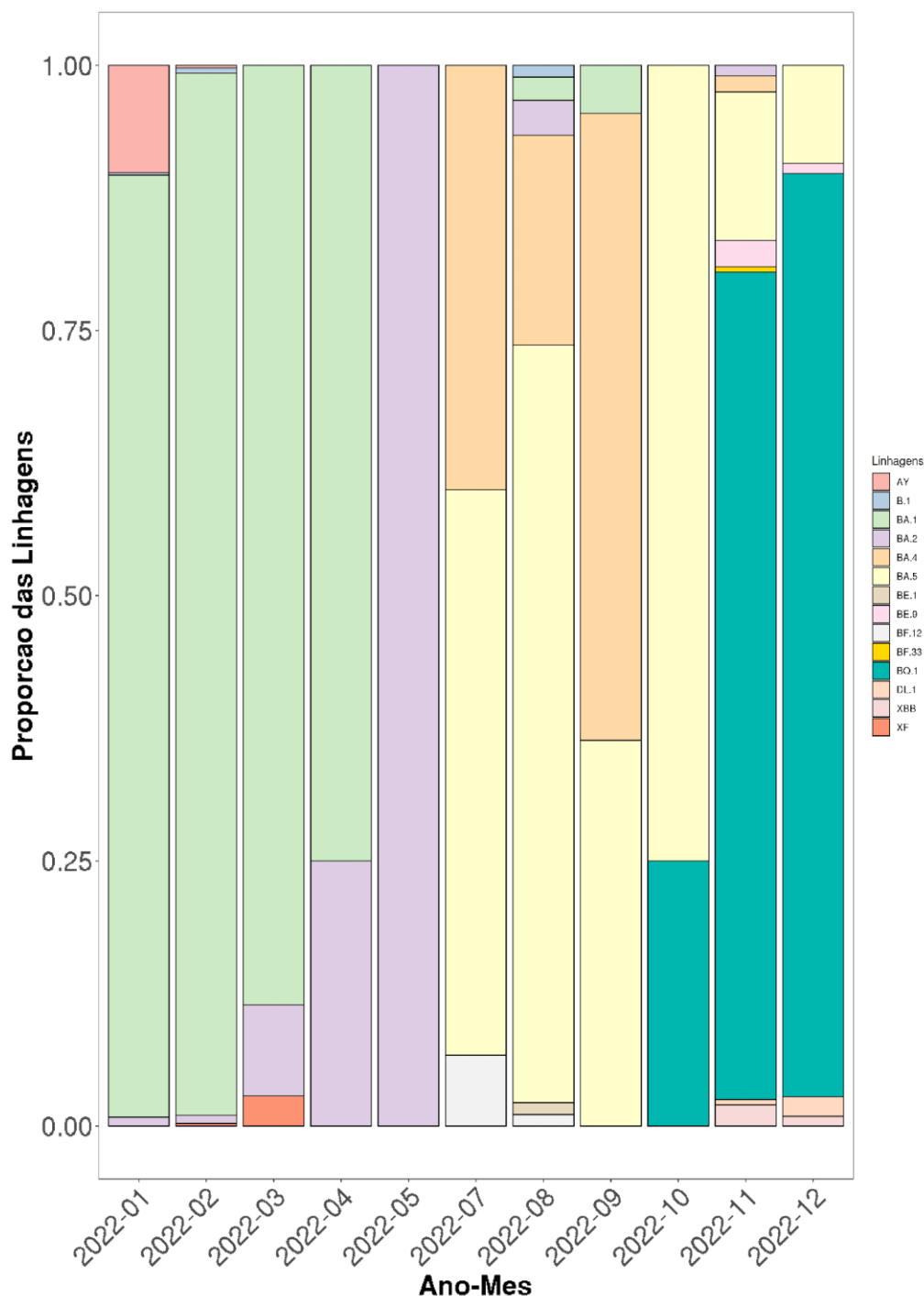
Fonte: Gal Bahia.

Nos resultados obtidos, é possível observar durante o período de janeiro algumas sequências referentes às linhagens da VOC delta (AY), como resultado do final da onda dessa variante, que posteriormente não é identificada, dando espaço às linhagens pertencentes a VOC Ômicron. Durante todo o ano de 2022 é observada a presença majoritária da VOC Ômicron, mas com diferentes linhagens e sublinhagens prevalecendo na Bahia nos momentos distintos. Durante os meses de janeiro, fevereiro, março e maio, a linhagem BA.1 e suas sublinhagens prevaleceram no estado, também com uma proporção de aproximadamente 40% no mês de abril, que teve a linhagem BA.2 e suas sublinhagens como a mais prevalente (**Figura 2**).

Durante os meses de junho a setembro é observada uma maior prevalência das linhagens BA.4 e BA.5 com suas respectivas sublinhagens. No mês de outubro a linhagem BA.5 e suas sublinhagens possuem maior prevalência, mas é observado o surgimento da linhagem BQ.1 e suas sublinhagens, que já no mês subsequente, em novembro, tem uma prevalência de 75% do total de sequências depositadas no GISAID pelo LACEN/BA, alcançando mais de 84% das amostras sequenciadas no mês de dezembro. No mês de novembro é observado o surgimento da recombinante XBB e suas sublinhagens na Bahia (**Figura 2**).

Figura 2. Frequência e distribuição das linhagens do SARS-CoV-2 no estado da Bahia no ano de 2022.

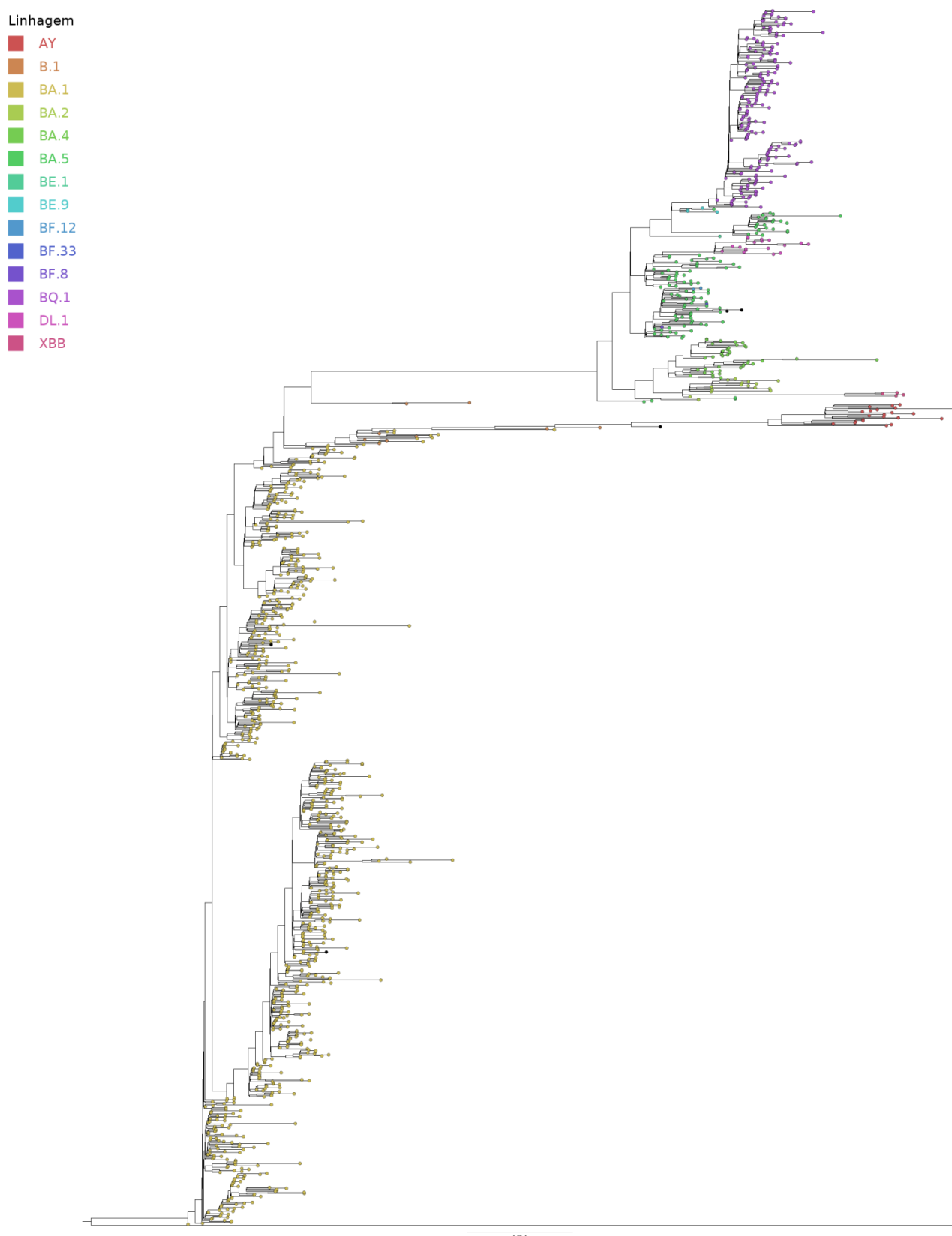
Obs: AY inclui as linhagens AY.34.1.1, AY.43, AY.43.2, AY.43.7, AY.46.3 e AY.99.2; B.1 inclui as sublinhagens B.1 e B.1.1.529; BA.1 inclui as sublinhagens BA.1, BA.1.1, BA.1.1.1, BA.1.1.14, BA.1.1.18, BA.1.1.6, BA.1.13, BA.1.14, BA.1.14.1, BA.1.14.2, BA.1.15, BA.1.17.2, BA.1.18 e BA.1.9; BA.2 inclui as sublinhagens BA.2, BA.2.9, BA.2.12.1, BA.2.65 e BA.2.81; BA.4 inclui as sublinhagens BA.4, BA.4.1, BA.4.1.5 e BA.4.6; BA.5 inclui as sublinhagens BA.5, BA.5.1, BA.5.1.15, BA.5.1.21, BA.5.1.22, BA.5.2, BA.5.2.1 e BA.5.3.1; BQ.1 inclui as sublinhagens BQ.1, BQ.1.1, BQ.1.1.4, BQ.1.22, BQ.1.3 e BQ.1.1.23; XBB inclui as linhagens XBB, XBB.1 e XBB.2.



Fonte: GAL Bahia.

Para análise filogenética, as sequências geradas pelo LACEN/BA no ano de 2022 foram alinhadas utilizando o MAFFT (Kato et al, 2019) e posteriormente foram submetidas à identificação de sinal filogenético e análise filogenética por *maximum likelihood* utilizando o software IQTREE (Minh et al, 2020). O modelo evolutivo selecionado pelo *Jmodeltest* (Darriba et al, 2012), implementado no IQTREE, foi o GTR+F+I+G4. A árvore foi anotada de acordo com as linhagens e o resultado pode ser observado na Figura 3. O resultado é condizente com a análise realizada pelo *Pangolin* e *Nextclade* e demonstra as sequências das linhagens e sublinhagens se agrupando de forma conjunta com suporte estatístico de *bootstrap*.

Figura 3. Reconstrução filogenética por *maximum likelihood* de 1362 sequências de SARS-CoV-2 geradas no LACEN/BA no ano de 2022.



Fonte: GISAID.

Por fim, ratificamos que a mobilidade humana representa um fator crucial para a dispersão do SARS-CoV2, bem como dessas variantes, portanto o distanciamento social e medidas de restrição ainda continuam sendo essenciais para tentarmos minimizar a circulação deste patógeno na Bahia.

REFERÊNCIAS

Aksamentov, I. *et al.* *Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes*. Journal of Open Source Software, 6(67), 3773 2021.

Cleemput, S. *et al.* "Genome Detective CoronavirusTyping Tool for rapid identification and characterization of novel coronavirus genomes." Bioinformatics, 2020.

Darriba D, *et al.* "jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing". Nat Methods. Jul 30;9(8):772 2012.

Katoh K, *et al.* "MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization" Briefings in Bioinformatics, Volume 20, Issue 4, Pages 1160–1166 2019.

Minh BQ, *et al.* "IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era." Mol. Biol. Evol., 37:1530-1534., 2020.

O'Tool, A. *et al.* "Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool" Virus Evolution DOI:10.1093/ve/veab064, 2021.

Rambaut, A. *et al.* "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.

Vilsker M, *et al.* "Genome Detective: an automated system for virus identification from high-throughput sequencing data". Birol I, editor. Bioinformatics. 35(5):871–3 2019.

Editorial Boletim Informativo Sequenciamento SARS-CoV-2

LACEN/BA – EDIÇÃO 07 – 30.12.2022

Superintendência de Vigilância e Proteção da Saúde (SUVISA)

Rívia Barros

Laboratório Central de Saúde Pública Profº Gonçalo Moniz (LACEN/BA)

Arabela Leal e Silva de Mello

Coordenação de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica (CLAVEP)

Coordenadora Técnica:

Felicidade Mota Pereira

Equipe Técnica de Elaboração:

Vanessa Brandão Nardy

Marcela Kelly Astete Gomez

Gabriela Sant'Ana Menezes

Aline Salomão de Araujo

Lara Evellyn do Nascimento Macedo

Filipe Ferreira de Almeida Rego

Análise dos dados e elaboração:

Felicidade Mota Pereira

Vanessa Brandão Nardy

Marcela Kelly Astete Gomez

Gabriela Sant'Ana Menezes

Aline Salomão de Araujo

Lara Evellyn do Nascimento Macedo

Filipe Ferreira de Almeida Rego

Edição:

Mariana Nossa Aragão