

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

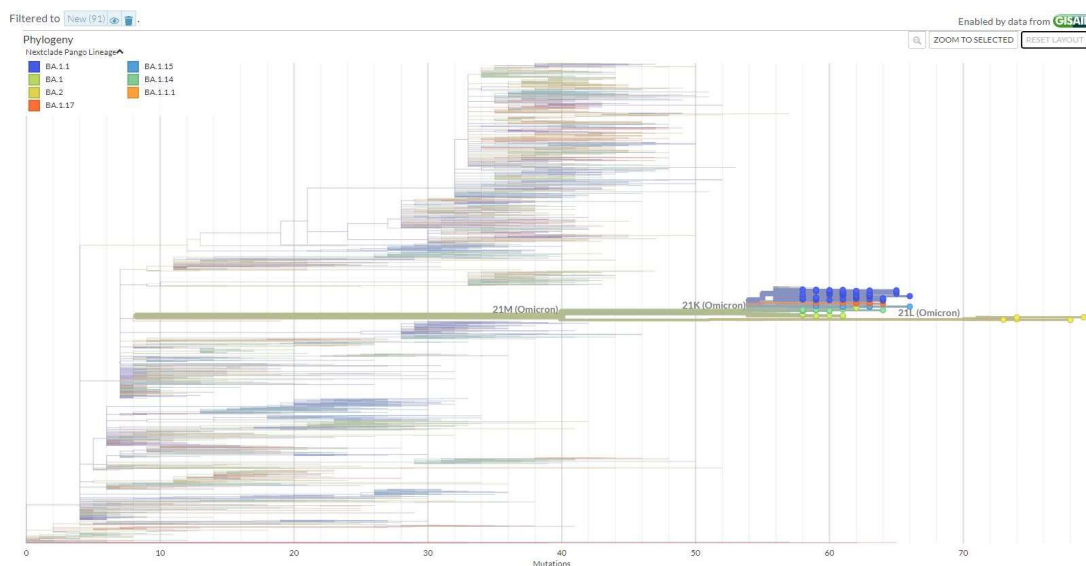
Porto Alegre, 31 de março de 2022

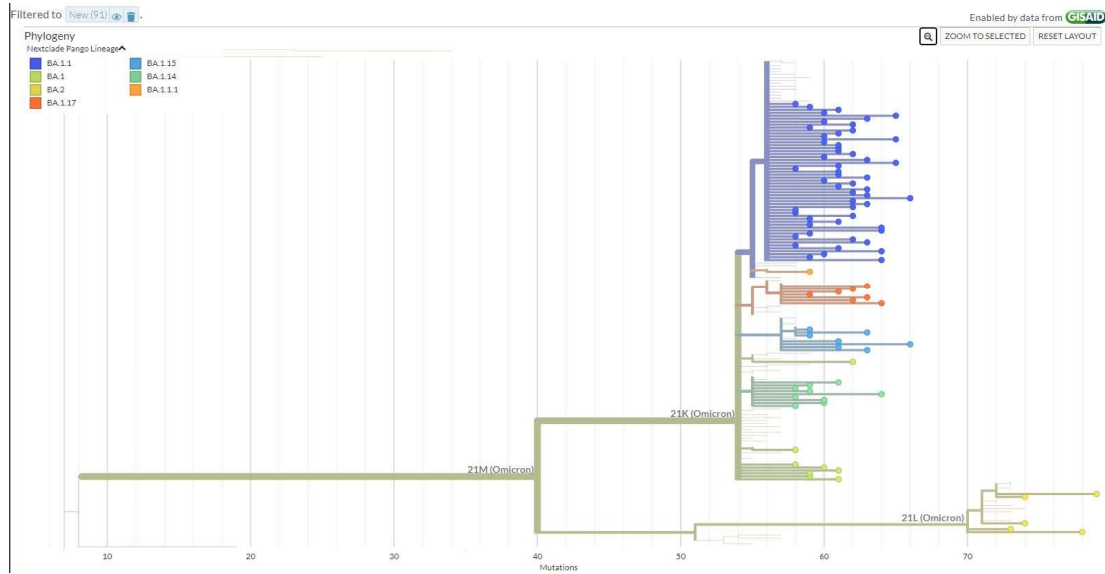
No dia 23 de março de 2022, a equipe do CEVS realizou o sequenciamento de 96 genomas completos do SARS-CoV-2, provenientes de pacientes com sintomas de covid-19 residentes em 37 diferentes municípios do Rio Grande do Sul: Alegrete (1), Bage (7), Cachoeira do Sul (4), Canoas (3), Caxias do Sul (2), Charqueadas (3), Cruz Alta (5), Dezesseis de Novembro (2), Encantado (1), Erechim (1), Espumoso (1), Estrela (1), Giruá (1), Guaíba (1), Ijuí (1), Mariana Pimentel (1), Nova Hartz (1), Novo Hamburgo (3), Osorio (3), Panambi (1), Passo Fundo (3), Pelotas (7), Porto Alegre (1), Santiago (3), Santo Ângelo (5), São Borja (2), São Jeronimo (2), São Luiz Gonzaga (1), São Sebastiao do Cai (1), Sapucaia do Sul (5), Sarandi (2), Taquari (1), Torres (1), Uruguaiana (3), Vacaria (3), Venâncio Aires (6) e Viamão (2) (Tabela 1, Figura 1A).

Os genomas sequenciados, utilizando a tecnologia desenvolvida pela Illumina (MiSeq), apresentaram em sua grande maioria cobertura superior a 98% 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 11 e 30 (média= 20). Ao final do sequenciamento foram geradas reads suficientes para análise em 96 amostras. Essas 96 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, 91 amostras resultaram em seqüências com qualidade mínima para condução de análises filogenéticas e determinação da linhagem do SARS-CoV-2.

A)





B)

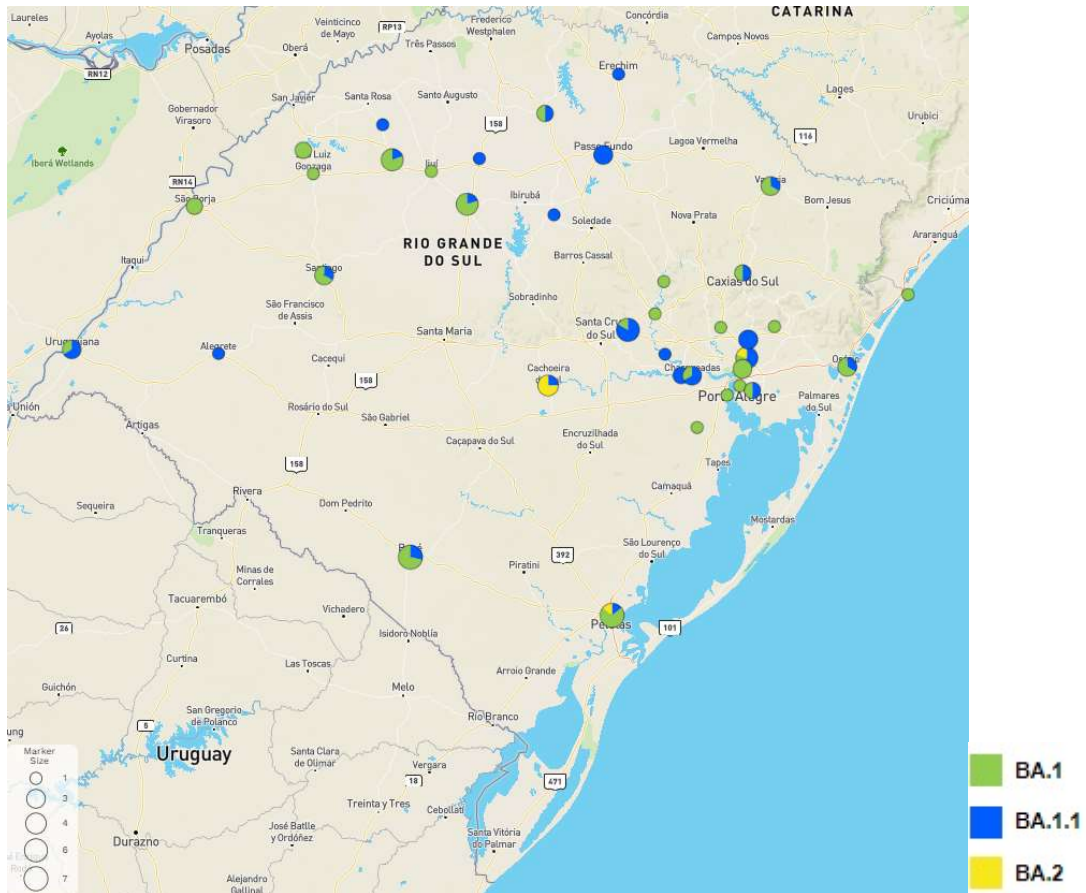


Figura 1. Reconstrução filogenética do SARS-CoV-2 no estado do Rio Grande do Sul. A) Filogenia do vírus SARS-CoV-2 reconstruída utilizando sequências 91 genômicas isoladas no Rio Grande do

Sul e sequências de referência presentes na ferramenta online Nextclade (<https://clades.nextstrain.org/>). 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).

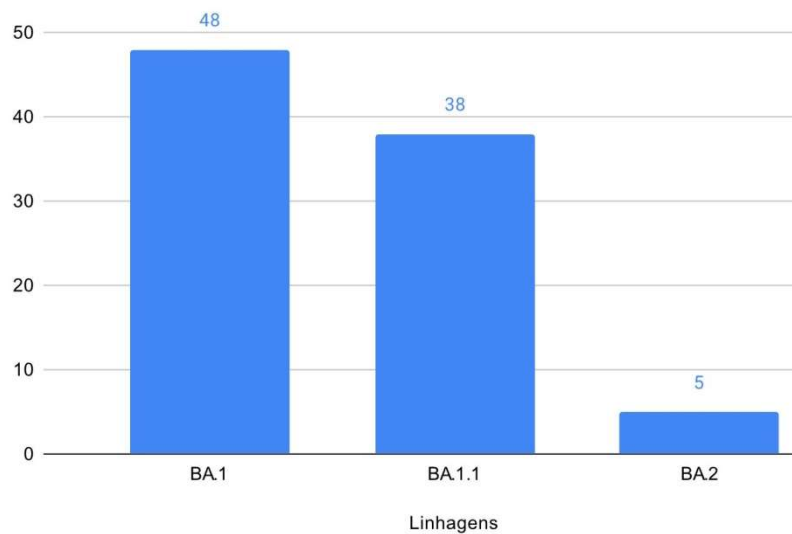


Figura 2. Frequência das linhagens e sub-linhagens do SARS-CoV-2 identificadas nas 95 amostras sequenciadas no estado do Rio Grande do Sul.

Os resultados demonstraram um aumento da diversidade entre as sequências da sublinhagem BA.1 da variante Ômicron no território gaúcho, bem como o predomínio absoluto dessa variante que substituiu a variante Delta que antes circulava no Rio Grande do Sul. A presente análise demonstra ainda um aumento na identificação da sublinhagem BA.2, identificada inicialmente em uma única amostra no último sequenciamento realizado no CEVS. 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, 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, Aksenen 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	Idade	Reads	Cobertura (%)	Profundidade	Linagem
115	25	Swab	PORTO ALEGRE	1/4/2022	22	96290	98.59	473.76	BA.1
18089	21	Swab	CRUZ ALTA	2/18/2022	63	348909	98.85	1662.6	BA.1
18091	11	Swab	BAGE	2/18/2022	32	364940	98.66	1723.39	BA.1
18093	15	Swab	CRUZ ALTA	2/18/2022	77	469069	99.84	2203.42	BA.1
18097	13	Swab	SANTO ANGELO	2/18/2022	86	511561	99.17	2407.88	BA.1
18648	30	Swab	SANTO ANGELO	2/22/2022	47	333126	99.64	1592.26	BA.1.1
19126	16	Swab	SAPUCAIA DO SUL	3/1/2022	78	457572	99.45	2152.71	BA.2
19130	13	Swab	CACHOEIRA DO SUL	2/26/2022	5M	388972	99.69	1838.8	BA.2
19158	27	Swab	PELOTAS	3/1/2022	92	167709	90.7	761.6	BA.1
19180	20	Swab	PELOTAS	2/28/2022	78	299407	99.25	1410.77	BA.2
19459	22	Swab	ESPUMOSO	3/2/2022	24	426113	99.88	2003.49	BA.1.1
19465	23	Swab	CACHOEIRA DO SUL	3/2/2022	1	375377	98.81	1780.72	BA.2
19484	22	Swab	SANTO ANGELO	2/25/2022	43	447046	99.11	2110.43	BA.1
19491	23	Swab	SANTO ANGELO	2/26/2022	79	421660	98.5	1991.67	BA.1
19493	27	Swab	SANTO ANGELO	2/23/2022	69	394092	98.46	1865.87	BA.1
19561	17	Swab	CAXIAS DO SUL	3/3/2022	8	535135	98.8	2518.25	BA.1
19568	26	Swab	SAO JERONIMO	3/3/2022	64	459096	99.84	2153.66	BA.1.1
19637	22	Swab	PELOTAS	3/3/2022	63	427830	99.63	2012.39	BA.1
19638	18	Swab	PELOTAS	3/2/2022	31	410125	99.51	1944.47	BA.1.1
19651	26	Swab	OSORIO	3/3/2022	42	407176	98.95	1922.56	BA.1
19746	17	Swab	NOVO HAMBURGO	3/3/2022	81	439386	99.46	2064.38	BA.1.1
19817	26	Swab	MARIANA PIMENTEL	3/3/2022	60	437001	99.63	2060.51	BA.1
19826	19	Swab	SAO BORJA	3/4/2022	39	499478	99.55	2346.38	BA.1
19859	25	Swab	CHARQUEADAS	3/3/2022	48	546467	99.76	2563.86	BA.1.1
19933	20	Swab	SAPUCAIA DO SUL	3/4/2022	35	430318	99.34	2031.52	BA.1
20054	20	Swab	SAO LUIZ GONZAGA	3/6/2022	86	498457	99.45	2342.82	BA.1

20075	23	Swab	GIRUA	3/7/2022	9	494362	99.53	2324.79	BA.1.1
20094	25	Swab	SANTIAGO	3/7/2022	51	421692	97.96	1982.88	BA.1
20126	27	Swab	CACHOEIRA DO SUL	3/7/2022	1	433660	98.96	2039.31	BA.2
20130	22	Swab	DEZESSEIS DE NOVEMBRO	3/7/2022	58	407417	99.64	1914.98	BA.1
20140	27	Swab	BAGE	3/7/2022	63	448375	98.82	2118.33	BA.1
20144	21	Swab	SAO BORJA	3/8/2022	68	490556	99.72	2300.91	BA.1
20149	23	Swab	TORRES	3/8/2022	75	549892	99.49	2582.52	BA.1
20231	27	Swab	CANOAS	3/8/2022	18	492382	98.61	2313.95	BA.1
20309	26	Swab	PELOTAS	3/9/2022	61	476231	98.04	2232.62	BA.1
20315	22	Swab	VENANCIO AIRES	3/9/2022	62	460066	98.68	2158.34	BA.1.1
20316	24	Swab	URUGUAIANA	3/7/2022	21D	475583	99.93	2234.39	BA.1
20465	21	Swab	DEZESSEIS DE NOVEMBRO	3/10/2022	73	482585	99.68	2264.99	BA.1
20467	26	Swab	ENCANTADO	3/10/2022	90	536648	98.96	2515.05	BA.1
20472	14	Swab	SAPUCAIA DO SUL	3/10/2022	79	519853	99.92	2439.2	BA.1.1
20478	20	Swab	SAPUCAIA DO SUL	3/10/2022	75	535486	99.36	2514.77	BA.1.1
20496	21	Swab	CRUZ ALTA	3/10/2022	48	433418	99.02	2032.38	BA.1
20602	21	Swab	CHARQUEADAS	3/10/2022	49	465267	99.8	2184.04	BA.1.1
20605	24	Swab	CHARQUEADAS	3/11/2022	30	589976	98.1	2495.9	BA.1
20618	16	Swab	CRUZ ALTA	3/11/2022	72	544209	99.85	2550.46	BA.1.1
20631	18	Swab	PELOTAS	3/10/2022	35	556095	99.51	2607.23	BA.1
16575	21	Swab	SARANDI	2/8/2022	91	388028	98.63	1807.87	BA.1.1
16562	20	Swab	SANTIAGO	2/8/2022	68	300749	99.56	1422.63	BA.1
16538	24	Swab	URUGUAIANA	2/6/2022	28	388584	99.47	1805.01	BA.1.1
17586	24	Swab	TAQUARI	2/14/2022	87	364472	98.12	1681.6	BA.1.1
17715	20	Swab	VENANCIO AIRES	2/15/2022	71	403556	98.5	1875.26	BA.1.1
17970	25	Swab	ESTRELA	2/17/2022	80	148321	96.95	716.22	BA.1
18009	16	Swab	OSORIO	2/17/2022	83	436159	99.24	2012.75	BA.1.1
18340	19	Swab	SANTIAGO	2/21/2022	47	298561	98.52	1407.11	BA.1.1

18346	14	Swab	PASSO FUNDO	2/18/2022	66	308439	99.12	1421.7	BA.1.1
18355	24	Swab	VACARIA	2/21/2022	77	399144	99.08	1876.32	BA.1
18371	15	Swab	PASSO FUNDO	2/17/2022	76	524786	99.63	2419	BA.1.1
18372	14	Swab	IJUI	2/21/2022	87	424878	99.59	1957.75	BA.1
18419	16	Swab	CACHOEIRA DO SUL	2/21/2022	9	359604	97.78	1685.89	BA.1.1
18423	21	Swab	BAGE	2/22/2022	87	443003	99.48	2062.41	BA.1.1
18436	13	Swab	SAPUCAIA DO SUL	2/21/2022	75	418596	98.94	1935.42	BA.1.1
18440	20	Swab	BAGE	2/22/2022	71	236756	98.97	1095.57	BA.1
19584	18	Swab	PASSO FUNDO	2/28/2022	80	524484	99.06	2408.92	BA.1.1
19675	22	Swab	PELOTAS	3/3/2022	67	255680	98.46	1165.38	BA.1
19904	24	Swab	VACARIA	3/4/2022	91	421353	99.88	1959.33	BA.1
19934	18	Swab	NOVO HAMBURGO	3/4/2022	98	364152	98.68	1692.24	BA.1.1
19944	22	Swab	CANOAS	3/6/2022	70	351863	98.82	1620.98	BA.1
19980	22	Swab	NOVA HARTZ	3/5/2022	74	482691	98.96	2240.39	BA.1
20090	19	Swab	ALEGRETE	3/7/2022	79	451008	99.12	2094.64	BA.1.1
20097	23	Swab	BAGE	3/4/2022	61	495759	98.62	2310.03	BA.1.1
20102	20	Swab	NOVO HAMBURGO	3/6/2022	81	464685	99.31	2146.34	BA.1.1
20141	24	Swab	BAGE	3/7/2022	45	452051	98.82	2085.34	BA.1
20201	19	Swab	ERECHIM	3/4/2022	69	515104	99.52	2373.29	BA.1.1
20212	21	Swab	CAXIAS DO SUL	3/7/2022	23	374630	98.49	1724.58	BA.1.1
20218	22	Swab	VIAMAO	3/8/2022	65	400594	99.18	1877.55	BA.1
20221	21	Swab	URUGUAIANA	3/3/2022	28	543010	98.74	2500.07	BA.1.1
20393	14	Swab	OSORIO	3/9/2022	77	377422	98.15	1736.96	BA.1
20497	22	Swab	CRUZ ALTA	3/10/2022	80	412617	98.92	1909.85	BA.1
16903	19	Swab	VENANCIO AIRES	2/9/2022	71	373099	99.49	1751.29	BA.1.1
16899	19	Swab	VACARIA	2/8/2022	51	465883	99.25	2155.71	BA.1.1
16889	20	Swab	VENANCIO AIRES	2/9/2022	13	522878	99.36	2426.31	BA.1.1
16884	24	Swab	VIAMAO	2/9/2022	47	430812	99.1	2023.92	BA.1.1
16874	15	Swab	CANOAS	2/8/2022	65	447208	98.22	2066.43	BA.1

16747	17	Swab	GUAIBA	2/9/2022	78	396629	99.28	1853.61	BA.1
16746	18	Swab	SAO SEBASTIAO DO CAI	2/8/2022	55	386216	99.02	1816.28	BA.1
16740	23	Swab	BAGE	2/9/2022	20	342307	99	1602.6	BA.1
16670	12	Swab	SAO JERONIMO	2/9/2022	70	453594	99.12	2103.46	BA.1.1
16649	14	Swab	VENANCIO AIRES	2/8/2022	70	379463	98.11	1757.06	BA.1
16647	24	Swab	VENANCIO AIRES	2/8/2022	91	520787	98.98	2406.79	BA.1.1
16595	20	Swab	PANAMBI	2/7/2022	48	635903	98.58	2986.26	BA.1.1
16588	16	Swab	SARANDI	2/5/2022	91	476907	98.83	2220.87	BA.1