

4º Relatório de Sequenciamento de Amostras de SARS-COV-2

Desde janeiro de 2021, pesquisadores da Universidade de Brasília (UnB) e servidores do Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal (LACEN-DF) firmaram uma parceria na pesquisa e execução de novos protocolos de sequenciamento de genomas de SARS-COV-2, visando o monitoramento genômico do Sars-CoV-2 circulantes no Distrito Federal, subsidiando as ações de vigilância e combate da pandemia do novo coronavírus.

Durante os meses de março, abril e maio de 2021 foram selecionadas amostras de acordo com alguns critérios estabelecidos pela equipe: (i) CTs discordantes entre os diferentes alvos, (ii) suspeita de reinfecção, (iii) pacientes provenientes de Manaus, (iv) óbitos e (v) pacientes escolhidos aleatoriamente dentre as amostras positivas da semana. Todas as amostras foram extraídas e amplificadas e sequenciadas nas dependências do LACEN-DF e do Instituto de Biologia da UnB.

Ao todo foram sequenciados 98 genomas com a plataforma MinION. Os dados gerados foram analisados com o objetivo de identificar mutações genômicas e linhagens dos vírus. Os resultados estão sumarizados na Tabela 1 e Figura 1. A variante mais abundante foi a variante P.1 (20J/501Y.V3), detectada em 100 amostras. As linhagens B.1.1.28 e B.1.1.33 foram encontradas em apenas uma (01) amostra cada. A linhagem B.1.1.28 foi sequenciada de um paciente com suspeita de reinfecção (1ª amostra coletada em 13/05/2020 e a 2ª em 09/03/2021). Após análises dos genomas obtidos foi possível confirmar o 1º caso de reinfecção pela variante P.1 no Distrito Federal (Figura 2).

As amostras listadas na Tabela 2 apresentaram mutações compartilhadas que podem ter alterado os sítios de ligação dos *primers* ou sondas do kit Allplex™ SARS-CoV-2 Assay. Estes pacientes foram incluídos pois possuíam Cts discordantes entre os alvos, com ausência de amplificação do alvo no gene N. Todos os pacientes deste grupo apresentaram uma deleção dos aminoácidos 203 até 205 do gene N. Como estas amostras compartilham a mesma deleção é importante monitorar padrões semelhantes nos ensaios de detecção viral para entendermos a relevância epidemiológica desta linhagem. Outras 3 amostras com o mesmo perfil foram identificadas em sequenciamentos anteriores (18035400, 18151922 e 17992614).

Tabela 1. Resumo dos resultados dos sequenciamentos realizados nos meses de abril e maio de 2021.

Linhagem	# de genomas
20J/501Y.V3 (P.1)	96
B.1.1.33	1
B.1.1.28	1
Total	98

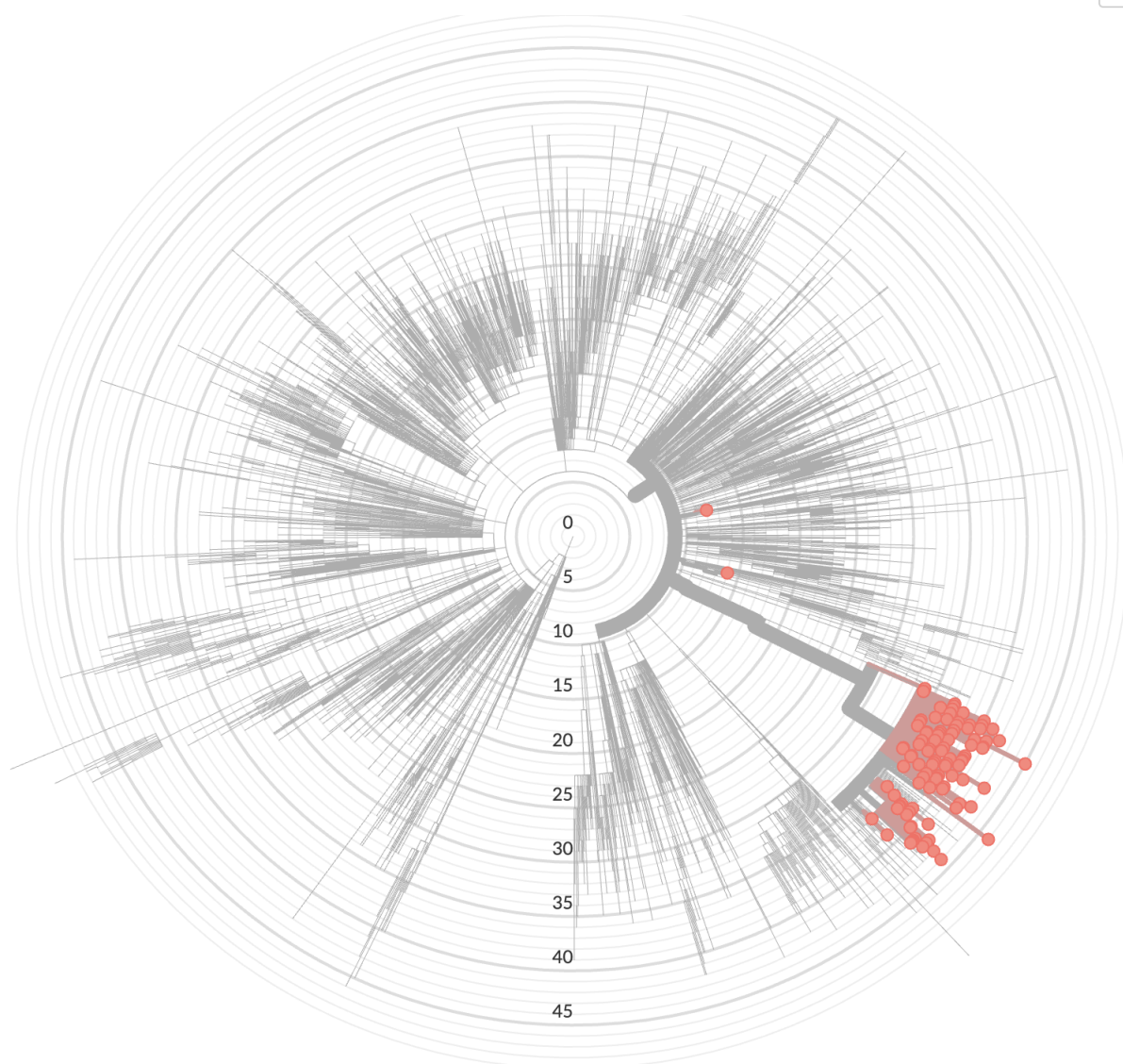


Figura 1. Árvore filogenética de máxima verossimilhança (MV) das sequências do genoma completo de diferentes linhagens circulantes no Brasil. As amostras do LACEN-DF estão destacadas em vermelho.

20B

20J/501YV3

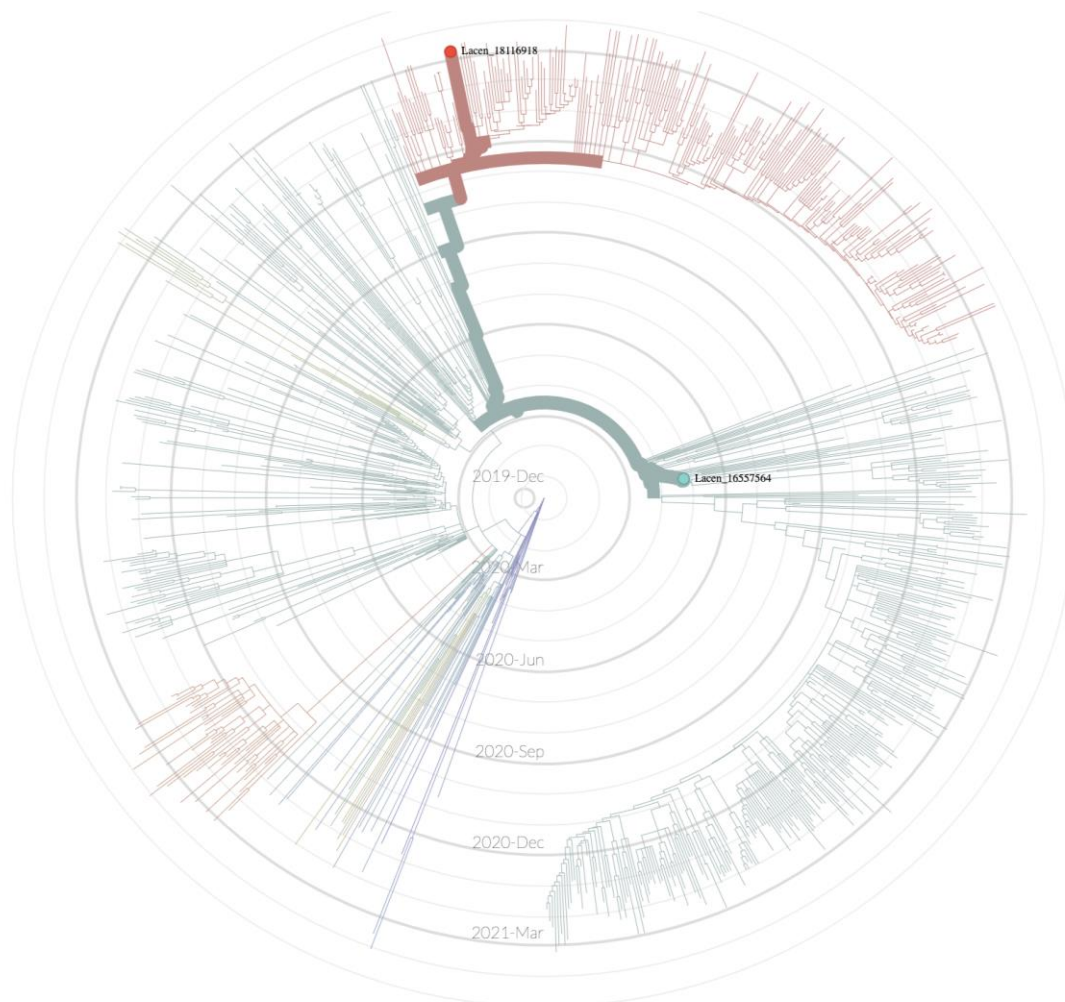


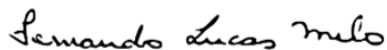
Figura 2. Árvore filogenética de máxima verossimilhança (MV) das sequências do genoma completo de diferentes linhagens circulantes no Brasil. As amostras provenientes do paciente com suspeita de reinfeção estão mostradas em destaque.

Tabela 2. Amostras com mutações no gene N que podem ter alterado os sítios de ligação de *primers* ou sondas do kit Allplex™ SARS-CoV-2 Assay.

Amostra	Deleções de aminoácidos
18290749	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18286132	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18305624	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18287107	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18240774	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18308949	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18279700	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18304919	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18279718	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18287132	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18278589	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-
18410589	N:S202-,N:R203-,N:G204-,N:T205-,N:P207-,N:A208-, ,ORF1a:S3675-,ORF1a:G3676-,ORF1a:F3677-, ,ORF7a:F63-

Estes resultados foram obtidos com o apoio financeiro da Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF) e também da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-MEC) e da Rede Corona-ômica BR (MCTIC/Finep).

Brasília, 02 de junho de 2021


Fernando Lucas de Melo

Equipe Executora

Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal (LACEN-DF)

Agenor de Castro M. dos Santos Junior
Alessandra Pinheiro de Medeiros
Brenno Vinicius Martins Henrique
Fabiano José Queiroz Costa
Lucas Luiz Vieira

Universidade de Brasília (UNB)

Aline Belmok de Araújo Dias
Anamélia Lorenzetti Bocca
Bergmann Morais Ribeiro
Fernando Lucas de Melo
Renato Oliveira Resende

