

NOTA TÉCNICA

SEQUENCIAMENTO GENÔMICO DE SARS-COV-2 EM AMOSTRAS CLÍNICAS PROVENIENTES DO MUNICÍPIO DE CARUARU EVIDENCIAM A PREVALÊNCIA DA LINHAGEM P.1 (GAMMA) DE MANAUS



UNIVERSIDADE
FEDERAL
DE PERNAMBUCO



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Aggeu Magalhães



PREFEITURA DE
CARUARU

NOTA TÉCNICA

SEQUENCIAMENTO GENÔMICO DE SARS-COV-2 EM AMOSTRAS CLÍNICAS PROVENIENTES DO MUNICÍPIO DE CARUARU EVIDENCIAM A PREVALÊNCIA DA LINHAGEM P.1 (GAMMA) DE MANAUS

Francisco de Assis da Silva Santos^{1,5}, Jonatas Teotonio Sales Alves¹, Rômulo Pessoa-e-Silva², Eraldo Fonseca dos Santos Júnior², Priscilla Stela Santana de Oliveira², Sayonara Maria Calado Gonçalves², Anderson Rodrigues de Almeida², Vanessa Mylenna Florêncio de Carvalho², Celine Beatriz Swollon Pegado², Bárbara de Oliveira Silva, Breno Caldas de Araújo², Valdir de Queiroz Balbino³, Marcelo Henrique Santos Paiva^{4,5}, Matheus Filgueira Bezerra⁶, Gabriel da Luz Wallau⁴, Moacyr Barreto de Mello Rego², Maira Galdino da Rocha Pitta², Michelly Cristiny Pereira².

1. Prefeitura de Caruaru – PE.
2. Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica-Suely Galdino (NUPIT-SG UFPE).
3. Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva (LABBE) – Departamento de Genética da UFPE.
4. Instituto Aggeu Magalhães (IAM) - Departamento de Entomologia.
5. Núcleo de Ciências da Vida, Centro Acadêmico do Agreste (NCV/CAA – UFPE).
6. Instituto Aggeu Magalhães (IAM) - Departamento de Microbiologia.

Introdução

Caruaru, com 361.118 habitantes (IBGE 2020), está entre as três principais cidades do Arranjo Produtivo Local – APL de Confeções do Agreste Pernambucano sendo o comércio e a indústria da moda de grande importância para a economia local. O município é um importante ponto de transeuntes regionais no Estado de Pernambuco e de todo o Nordeste, pois conta com o maior polo de confeções da região (segundo maior do país), onde há elevada informalidade e grande concentração de pessoas. Estes fatores favorecem as aglomerações e, por conseguinte, o aumento de risco de contágio e disseminação da COVID-19. O Parque 18 de maio, que abriga a tradicional *Feira de Caruaru* e a *Feira da Sulanca* (de confeções), atrai compradores de todo o Nordeste e do país. Em média, estas feiras recebem cerca de 300 mil compradores a cada mês, alcançando aproximadamente 600 mil visitantes quando chega a época de final de ano. A cidade se destaca ainda por abrigar o segundo maior polo médico do estado, um dos maiores de todo o Nordeste, e ainda possui uma concentração de instituições de ensino superior que atraem quase 20 mil estudantes de mais de 30 municípios.

No mês de maio de 2020, foi publicado um estudo - o relatório de análise multicritério da vulnerabilidade à pandemia de COVID-19 na Região Nordeste do Brasil - divulgado pela Superintendência de Desenvolvimento do Nordeste-SUDENE, que apontava quatro grandes eixos: 1) **Grupos de riscos**: considerou o número de

pessoas acima de 60 anos e pessoas internadas nos últimos seis meses, mesmo não idosas; 2) **Fator Social**: considerando o percentual dos munícipes que estavam inseridos no Cadastrado Único para programas sociais do governo federal; 3) **Acesso a equipamentos de saúde**: calculado pelo número de leitos por 10 mil habitantes, número de respiradores por 10 mil habitantes e número de pessoas que moram a mais de uma hora de distância do centro de saúde mais próximo; 4) **Proximidade a focos de contágio**: tomava como referência a relevância socioeconômica em relação aos municípios circunvizinhos e o número estimado de infectados por COVID-19 de cada município da região de saúde. O estudo concluiu que os municípios de médio porte estão entre os mais vulneráveis ao cenário pandêmico e que a cidade de Caruaru, situada no agreste pernambucano, seria a mais atingida pela COVID-19 dentre as quase 1.800 cidades nordestinas.

Apesar da adoção de medidas de enfrentamento (e.g. adoção de barreiras sanitárias, abertura de serviços especializados, testagem descentralizada, forte campanha de comunicação social, utilização de vigilância participativa) desde março de 2020 (LEAL-NETO et al., 2020), as infecções pelo SARS-CoV-2 se mantêm com comportamento oscilante, com tendência de sustentação e com difícil redução (**Figura 1**).

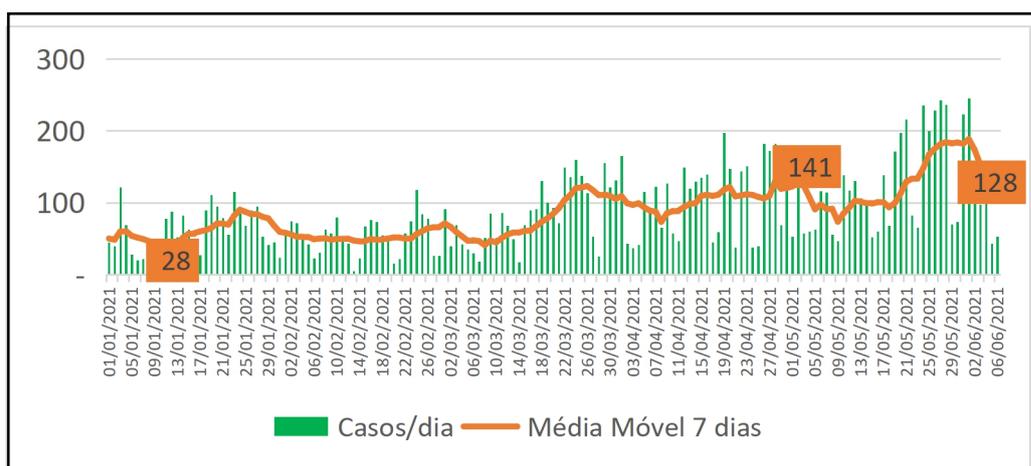


Figura 1. Casos confirmado e média móvel nos últimos 90 dias.

Tem-se verificado a sustentação da ocupação, em patamares elevados, de todos os serviços assistenciais dedicados ao atendimento exclusivo de casos de Síndromes Respiratórias Agudas Graves (SRAG) (**Figura 2**). No início da pandemia, existiam cerca de 30 leitos de UTI voltados para as SRAG; hoje, são mais de 250, incluindo a rede privada, e todos estão praticamente ocupados.

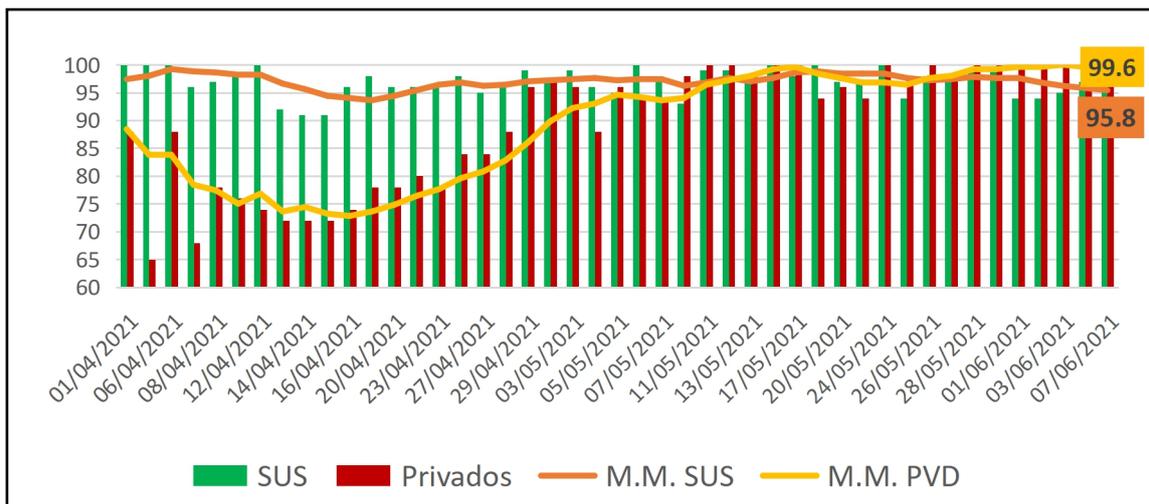


Figura 2. Percentual de ocupação de leitos de UTI, com média móvel.

Recentemente, pelo crescente número de notificações e conseqüentemente de internamento por SRAG, especialmente de pacientes de faixas etárias mais jovens (**Figura 3**), que demanda um maior tempo nos serviços de saúde, observa-se que há uma elevação permanente e muito perigosa no consumo de oxigênio medicinal, o que pode levar a um colapso na assistência dos municípios da região (**Figura 4**).

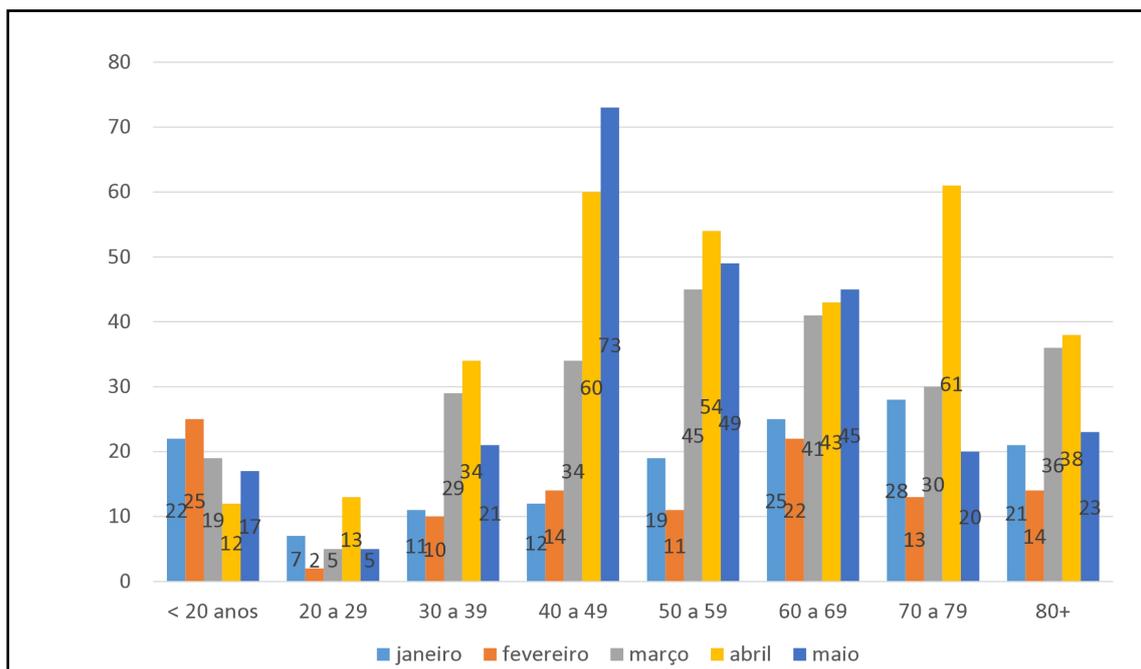


Figura 3. SRAG por faixa etária e mês no ano de 2021

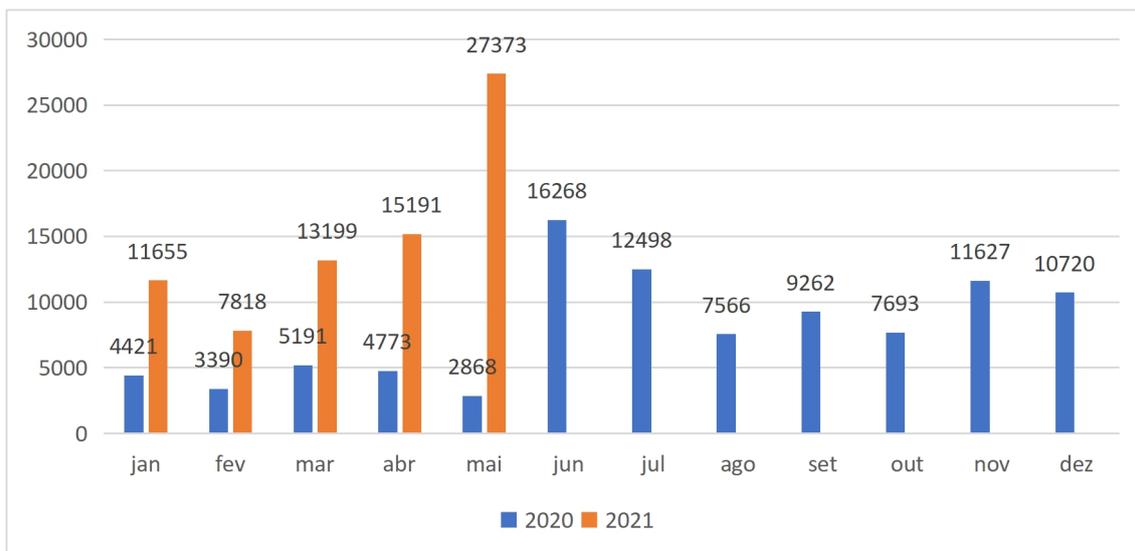


Figura 4. Consumo mensal de oxigênio líquido na rede municipal de saúde de Caruaru.

Devido ao rápido aumento no número de casos e internações observado recentemente em Caruaru e em outros municípios da IV Gerência Regional de Saúde (IV GERES), reconheceu-se a necessidade de se realizar a análise genômica das variantes de SARS-CoV-2 que predominam na região. O monitoramento de variantes do vírus SARS-CoV-2 representa uma estratégia necessária para as medidas de vigilância epidemiológica, tendo em vista o surgimento de novas variantes do vírus que já foram relatadas no Brasil e o impacto que estas alterações genéticas podem provocar no comportamento do vírus em relação a disseminação e hospitalização. Algumas variantes, como a de Manaus (P.1), possuem um maior potencial de transmissibilidade, além de serem capazes de desenvolver quadros mais graves nos pacientes.

Envio de amostras ao NUPIT-SG e diagnóstico por RT-qPCR

Em 29 de maio de 2021, foram enviadas ao Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – Suely Galdino (NUPIT-SG) 48 amostras de *swabs* nasofaríngeos provenientes de pacientes do município de Caruaru (47) e Toritama (01). Todos os indivíduos apresentavam sinais clínicos da COVID-19 e estavam internados em hospitais das cidades, sendo 13 alocados na enfermaria (setor amarelo), 25 no semi-intensivo (setor vermelho) e 10 na UTI. Os sinais clínicos registrados em maior frequência foram: febre, dispneia, tosse, mialgia e cefaleia. Todos os pacientes, com exceção de um, recebiam algum suporte respiratório no momento da coleta: cateter nasal, máscara não-reinalante ou tubo orotraqueal.

As amostras foram submetidas ao exame de PCR quantitativa em tempo real após transcrição reversa (RT-qPCR) no laboratório do NUPIT-SG e do total, 34 (71%) foram positivas (**Figura 5**). Das positivas, cinco apresentaram valor de ciclo *threshold* (Ct) tardio, e, portanto, não atendiam aos critérios para o sequenciamento genômico. Assim, 29 amostras foram selecionadas para a realização do sequenciamento.

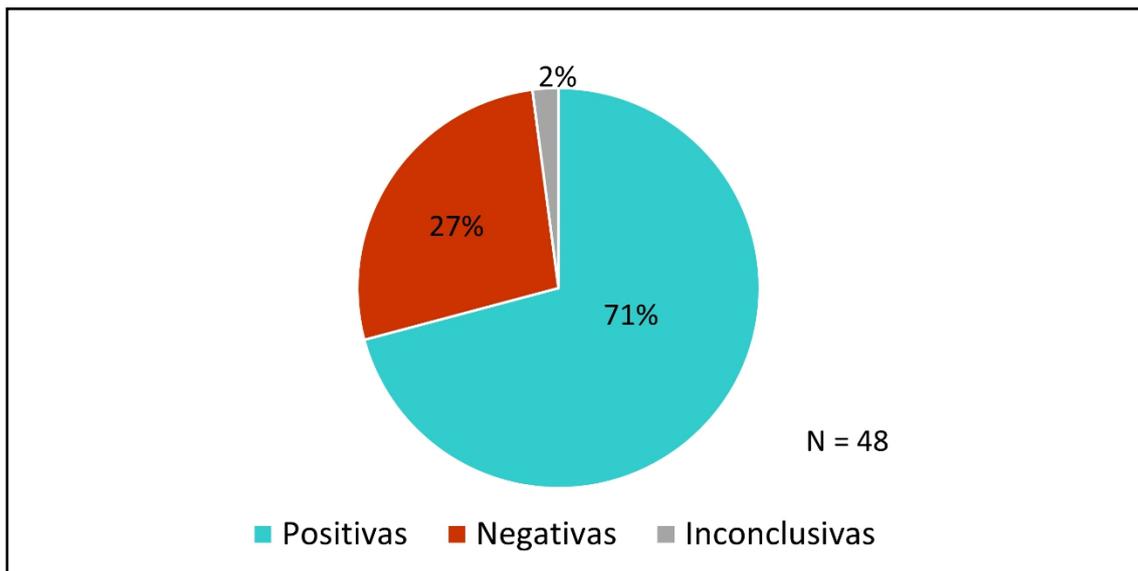


Figura 5. Proporções de amostras positivas, negativas e inconclusivas obtidas após a testagem por RT-qPCR para a COVID-19 das amostras provenientes de Caruaru (47) e Toritama (01).

Envio das amostras positivas para sequenciamento genômico

Em 31 de maio de 2021, as 29 amostras positivas foram enviadas pelo NUPIT-SG ao Instituto Aggeu Magalhães – (IAM/FIOCRUZ). A técnica, baseada no sequenciamento por eletroforese capilar, foi empregada e, a partir de apenas um fragmento específico do genoma viral, a equipe conseguiu distinguir diferentes variantes circulantes de SARS-CoV-2 (BEZERRA et al., 2021).

Resultados do sequenciamento genômico

Em 02 de junho de 2021, o IAM/FIOCRUZ forneceu ao NUPIT-SG os dados do sequenciamento, e os seguintes resultados foram obtidos: das 29 amostras, foi possível sequenciar com eficiência e confiabilidade um total de 27 amostras (93,1%). Não foi possível obter o resultado de duas amostras, dentre elas, àquela proveniente de Toritama-PE.

Das 27 amostras, **VINTE E SEIS (96,3%)** apresentaram mutações características da **variante P.1 (ou variante Gamma, segundo a recente designação proposta pela Organização Mundial de Saúde)** (Figura 6). Analisando-se por setor hospitalar, verificou-se a presença da variante P.1 em pacientes dos três setores: amarelo (pacientes da enfermaria), vermelho (pacientes semi-intensivo) e UTI (Figura 7).

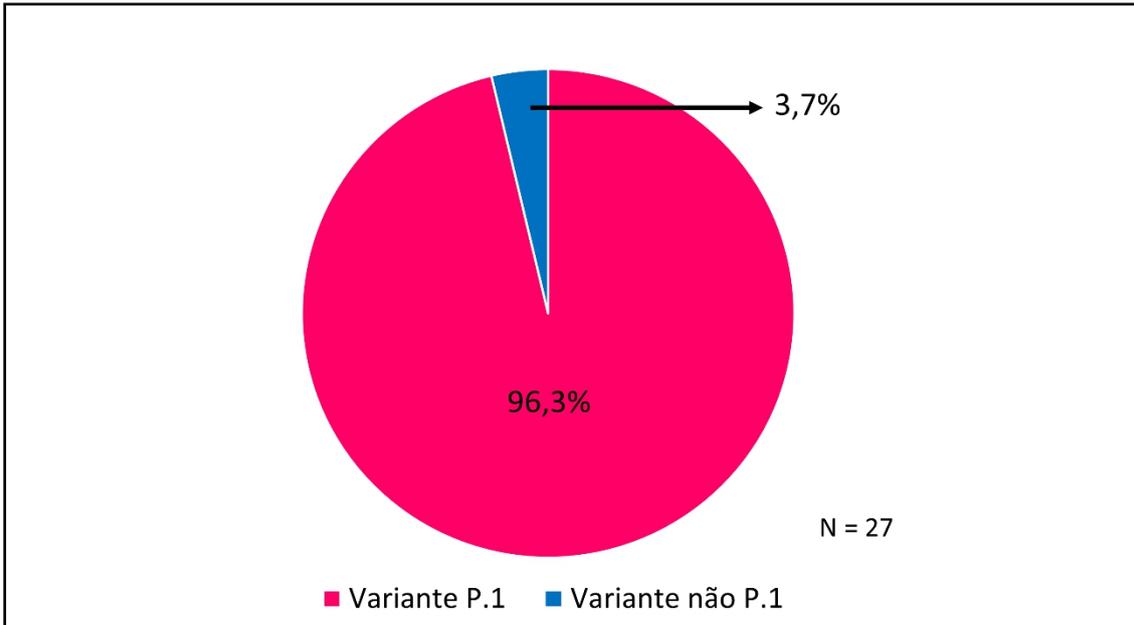


Figura 6. Proporção de indivíduos infectados com a variante P.1 de acordo com sequenciamento genômico realizado no IAM/FIOCRUZ a partir de amostras provenientes de Caruaru-PE.

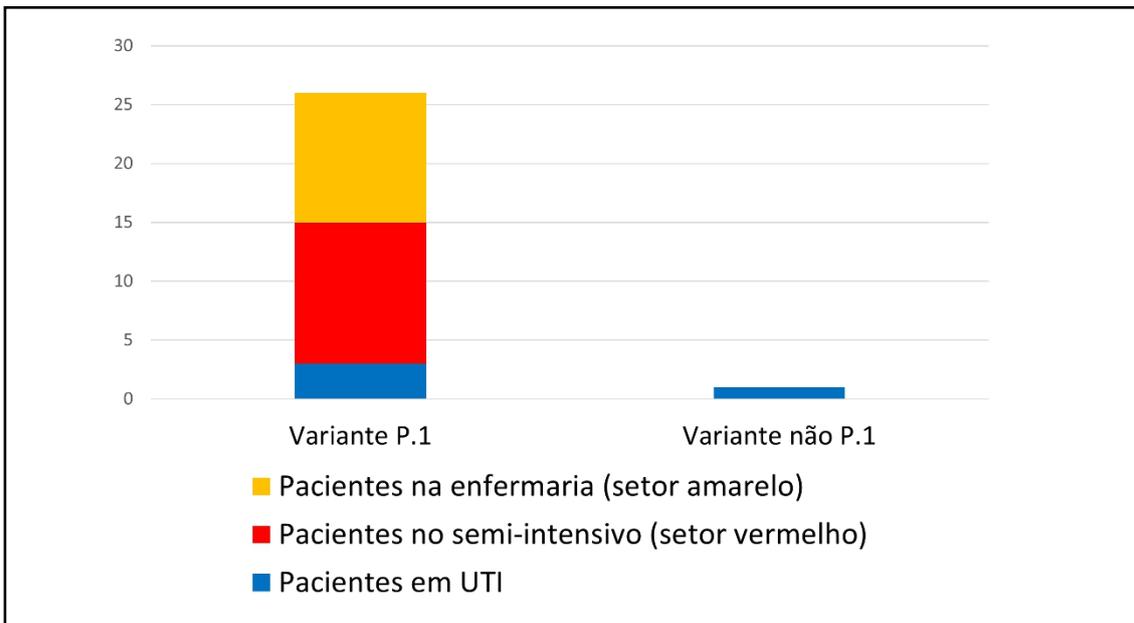


Figura 7. Variantes de SARS-CoV-2 em pacientes de Caruaru-PE internados em três diferentes setores hospitalares.

A segunda onda da COVID-19 em Manaus (AM), em meados de dezembro, coincidiu com o surgimento da variante P.1, também conhecida como N501Y.V3. A origem desta variante está associada à linhagem B.1.1.28, tendo sido primeiramente detectada em quatro viajantes que retornavam ao Japão, a partir do estado do Amazonas, em 2 de janeiro de 2021 (FUJINO et al., 2021). A P.1 abriga em sua

constituição genômica 21 substituições de aminoácidos definidoras de nova linhagem, incluindo dez na proteína Spike [L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y e T1027I] (NAVECA et al., 2021).

A predominância da variante P.1 do SARS-CoV-2 na região do Agreste de Pernambuco é preocupante, em função da presença de mutações que resultam na maior transmissibilidade em virtude de alterações quanto à afinidade à ACE2, enzima conversora da angiotensina 2 (substituição N501Y). Dentre as variações encontradas na linhagem P.1, considera-se ainda que a E484K provoca uma diminuição na resposta aos anticorpos neutralizantes, o que favorece os casos de reinfecções e diminuição de sensibilidade às vacinas. A P.1 geralmente provoca quadros mais graves, o que justifica o seu predomínio nos casos avaliados de Caruaru, onde todos os pacientes tinham alterações respiratórias, com demanda de oxigênio. Estudos indicam uma alta taxa de mortalidade relacionada a infecção da variante P.1, especialmente devido a superlotação das Unidades Intensivas de Saúde (BOEHM et al., 2021), o que confirma a gravidade da situação dos municípios do Agreste de Pernambuco.

Em Caruaru, há uma elevação permanente no número de reinfecções, considerando dados da própria secretaria municipal que documentam cerca de 600 casos de potenciais reinfecções, especialmente nos últimos 90 dias, o que pode ser um forte indicativo da presença de variantes de preocupação (VOCs) e/ou de importância (VOI), circulantes.

Neste contexto, é de **extrema urgência a aquisição de mais imunizantes para a região do Agreste para tentar conter o avanço dos casos da COVID-19 e a consequente disseminação da variante P.1**, assim haveria uma contenção nos impactos que poderiam levar ao desabastecimento de diversos insumos estratégicos, dentre eles o oxigênio.

Recife, 07 de junho de 2021

Referências

Bezerra MF, Machado LC, de Carvalho VCV, et al. A Sanger-based approach for scaling up screening of SARS-CoV-2 variants of interest and concern. *Infection, Genetics and Evolution* 92 (2021) 104910. doi: 10.1016/j.meegid.2021.104910

Boehm E, Kronig I, Neher RA, et al. Novel SARS-CoV-2 variants: the pandemics within the pandemic [published online ahead of print, 2021 May 17]. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021; S1198-743X(21) 00262-7. doi: 10.1016/j.cmi.2021.05.022

Fujino T, Nomoto H, Kutsuna S, et al. Novel SARS-CoV-2 variant identified in travelers from Brazil to Japan. *Emerging Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.3201/eid2704.210138> (2021).

Leal-Neto OB, Santos FAZ, Lee JY, et al. Prioritizing COVID-19 tests based on participatory surveillance and spatial scanning. **International Journal of Medical Informatics**, v. 143, p. 104263, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2020.104263>>.

Naveca FG, Nascimento V, Souza VC, et al. COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P.1 emergence

Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste. Análise multicritério da vulnerabilidade à pandemia de COVID-19 na Região Nordeste do Brasil. Disponível em: <https://www.gov.br/sudene/pt-br/centrais-de-conteudo/vulnerabilidade-covid19-2020-ne-benevenuto-brandao-pdf>. Acesso em: 03 de nov. de 2020.