



# Diversidade genética do novo coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19) em Portugal

Mais informações em <https://insaflu.insa.pt/covid19/>

## Relatório de situação

3 de Janeiro de 2021

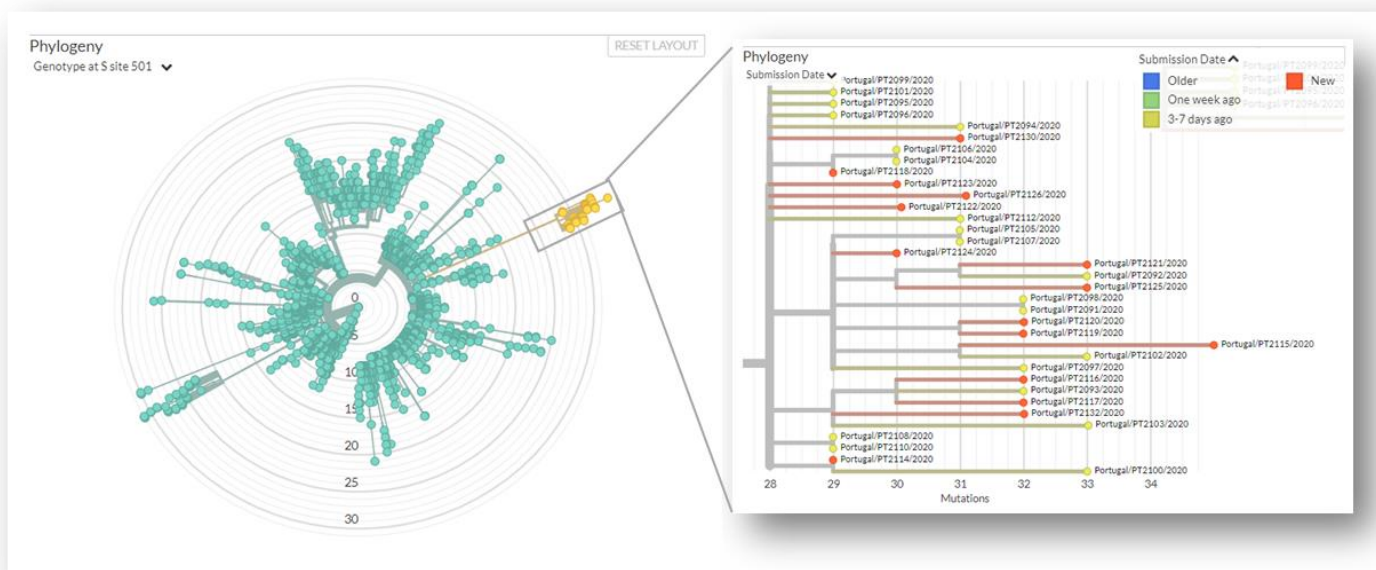
O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P. (INSA) analisou até à data **2287 sequências do genoma do novo coronavírus SARS-CoV-2**, obtidas de amostras colhidas em 69 laboratórios/hospitais/instituições representando 199 concelhos. 593 sequências foram geradas no Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC), instituição colaboradora do INSA neste estudo.

Nesta actualização do site foram inseridas **mais 19 sequências** obtidas no âmbito da solicitação do Ministério da Saúde para que fosse pesquisada a presença da nova variante recentemente identificada no Reino Unido (VOC-202012/01; N501Y.V1; linhagem B.1.1.7) em amostras suspeitas, incluindo amostras em que foi verificada a falha na detecção do gene S por RT-PCR e amostras associadas a casos positivos de COVID-19 com historial de viagem.

Entre as novas sequências, destaca-se a detecção de **16 sequências da nova variante recentemente identificada no Reino Unido (VOC-202012/01; N501Y.V1; linhagem B.1.1.7)\* (Figura 1)**, as quais são referentes a 10 amostras colhidas no aeroporto de Lisboa e a 6 amostras provenientes de outros locais de Portugal continental. **Juntamente com os 18 casos previamente detectados na Madeira** (ver relatório de 28 de Dezembro), **foram detectadas no território português até à data um total de 34 casos de infecção associados à nova variante.**

**A diversidade genética desta variante nos 34 casos (Figura 1) é concordante com a ocorrência de múltiplas introduções independentes.**

Caso se venha a verificar que algumas destas sequências estão associadas a casos para os quais foi reportada a inexistência de viagem ao estrangeiro, os mesmos poderão configurar transmissão comunitária desta variante em Portugal. Estes resultados foram reportados às entidades de Saúde Pública, por forma a que seja levada a cabo a investigação de potenciais contactos e cadeias de transmissão.



**Figura 1. Enquadramento filogenético da nova variante recentemente identificada no Reino Unido (VOC-202012/01; N501Y.V1; linhagem B.1.1.7) no contexto dos genomas analisados em Portugal até à data** (as sequências da árvore filogenética à direita estão coloridas de acordo com a data da sua disponibilização no site). Até à data, foram analisadas 37 sequências desta variante (associadas a 34 casos de infecção). \*Para duas destas 37 amostras (incluindo, uma entre as 16 reportadas nesta actualização) foi apenas obtida a sequência parcial do genoma viral, pelo que não foram integradas na árvore filogenética (<https://insaflu.insa.pt/covid19/>).



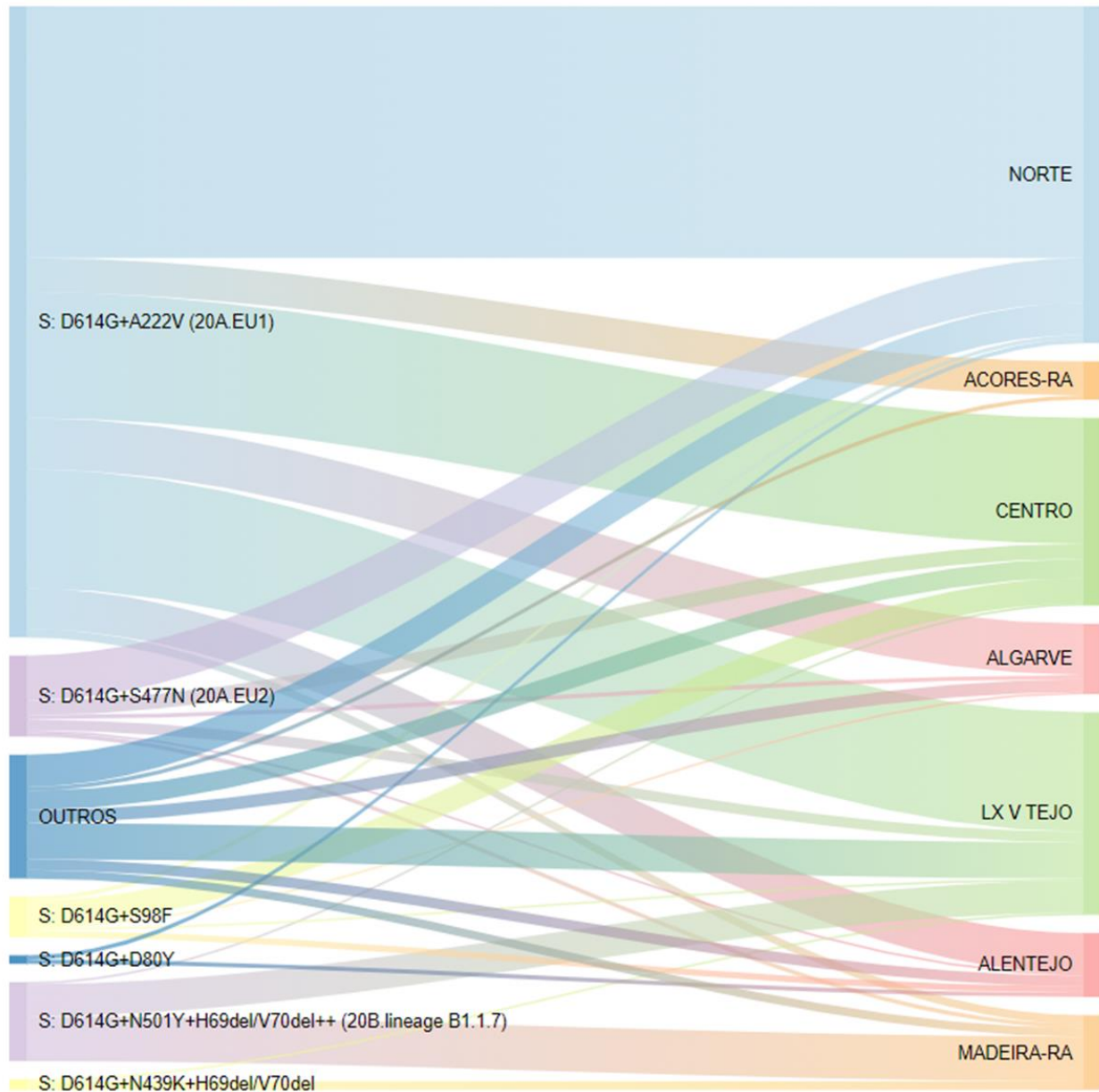
O INSA prosseguirá com as actividades de vigilância laboratorial do SARS-CoV-2 em articulação com as autoridades de Saúde, mantendo especial foco na detecção de novas introduções desta nova variante, bem como na monitorização de eventuais cadeias de transmissão.

A Tabela seguinte e a Figura 2 apresentam a distribuição e frequência actualizadas das principais variantes genéticas do SARS-CoV-2 detectadas em Portugal desde o início de Novembro (n=457).

Variante	PROPORÇÃO (n=457) <sup>a</sup>	CONTEXTO
S: D614G+A222V (sub-clade "20A.EU1")	296 (64,8%)	<p>- Este cluster (sub-clade 20A.EU1) terá tido origem em Espanha (em meados de Junho), tendo revelado uma elevada disseminação a nível global. Hodcroft et, al, medRxiv. <a href="https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2">https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2</a></p> <p>- A mutação A222V na Spike altera um potencial local antigénico (epítipo). Mateus et al, 2020, Science. <a href="https://science.sciencemag.org/content/370/6512/89">https://science.sciencemag.org/content/370/6512/89</a></p> <p>- Uma variante com esta mutação A222V este na origem de um caso de re-infecção descrito em Hong Kong. To et al, 2020, CID. <a href="https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciaa1275/5897019">https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciaa1275/5897019</a></p>
S: D614G+S477N (sub-clade "20A.EU2")	38 (8,3%)	<p>- Este cluster (sub-clade 20A.EU2) apresenta uma considerável disseminação internacional. Hodcroft et, al, medRxiv. <a href="https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2">https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2</a></p> <p>- A mutação S477N na Spike altera o domínio de ligação ao receptor ("RBD") ACE2, podendo aumentar a afinidade da ligação da Spike às células do hospedeiro. Starr et al, 2020, Cell. <a href="https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420310035">https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420310035</a></p>
S: D614G+N501Y+H69del/V70del++ (sub-clade 20B; VOC-202012/01; N501Y.V1; linhagem B.1.1.7)	37 (8,1%) <sup>a</sup>	<p>- Esta variante apresenta múltiplas mutações na proteína Spike, potencialmente mediadoras de uma maior capacidade de transmissão. Foi detectada em Setembro no Reino Unido e, desde então, em múltiplos países. <a href="https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-variant-multiple-spike-protein-mutations-United-Kingdom.pdf">https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-variant-multiple-spike-protein-mutations-United-Kingdom.pdf</a></p> <p>- Esta variante apresenta uma deleção no gene S, a qual está associada à falha na detecção deste gene em alguns testes de RT-PCR. <a href="https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-variant-multiple-spike-protein-mutations-United-Kingdom.pdf">https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-variant-multiple-spike-protein-mutations-United-Kingdom.pdf</a></p>
S: D614G+S98F (sub-clade 20A)	19 (4,2%)	<p>- Esta variante é encontrada com maior frequência na Bélgica e Holanda, tendo já sido identificada em múltiplos países. Hodcroft et, al, medRxiv. <a href="https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2">https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2</a>; <a href="https://github.com/emmahodcroft/cluster_scripts/blob/master/README.md#sn501">https://github.com/emmahodcroft/cluster_scripts/blob/master/README.md#sn501</a></p>
S: D614G+N439Y+H69del/V70del (sub-clade 20A; linhagem B.1.258)	5 (1,1%) <sup>b</sup>	<p>- A mutação N439Y na Spike altera o domínio de ligação ao receptor ("RBD") ACE2, podendo aumentar a afinidade da ligação da Spike às células do hospedeiro e alterar a reconhecimento por anticorpos. Weisblum et al, 2020, Elife. <a href="https://elifesciences.org/articles/61312">https://elifesciences.org/articles/61312</a>; Barnes et al, 2020, Nature <a href="https://www.nature.com/articles/s41586-020-2852-1">https://www.nature.com/articles/s41586-020-2852-1</a>; Thomson et al, 2020, <a href="https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.11.04.355842v1">https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.11.04.355842v1</a></p> <p>- Esta variante apresenta uma deleção no gene S, a qual está associada à falha na detecção deste gene em alguns testes de RT-PCR. <a href="https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-variant-multiple-spike-protein-mutations-United-Kingdom.pdf">https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-variant-multiple-spike-protein-mutations-United-Kingdom.pdf</a></p>
S: D614G+D80Y (sub-clade 20C)	4 (0,9%)	<p>- Esta variante é encontrada com maior frequência na França, Noruega e Holanda, tendo já sido identificada em múltiplos países. Hodcroft et, al, medRxiv. <a href="https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2">https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2</a>; <a href="https://github.com/emmahodcroft/cluster_scripts/blob/master/README.md#sn501">https://github.com/emmahodcroft/cluster_scripts/blob/master/README.md#sn501</a></p>
OUTRAS	58 (12,7%)	----

<sup>a</sup> Até à data, foram analisadas 37 sequências desta variante (associadas a 34 casos de infecção). Para duas destas 37 amostras (incluindo, uma entre as 16 reportadas nesta actualização) foi apenas obtida a sequência parcial do genoma viral, pelo que não foram integradas na árvore filogenética (<https://insaflu.insa.pt/covid19/>).

<sup>b</sup> Para uma destas 4 sequências apenas foi possível obter parcialmente a sequência do gene S. Contudo, a partilha de outras mutações aponta que o posicionamento filogénico e classificação dessa sequência como "S: D614G+N439Y+H69del/V70del (linhagem B.1.258)" é correcto.



**Figura 2.** Frequência das principais variantes genéticas do SARS-CoV-2 detectadas em Portugal desde o início de Novembro (à esquerda) e sua distribuição por região (à direita).



## NOTAS ADICIONAIS (também disponível em <https://insaflu.insa.pt/covid19/>)

### Objectivos gerais do estudo:

- Determinação dos **padrões de disseminação do vírus nas diferentes regiões de Portugal** e em diferentes grupos populacionais.
- Determinação dos perfis mutacionais do SARS-CoV-2 para **identificação e monitorização de cadeias de transmissão**, bem como **identificação de novas introduções do vírus** em Portugal.
- Prever o início da transmissão na comunidade e aferir o impacto das medidas de contenção, avaliando a **contribuição da transmissão local versus importações do vírus**.
- Determinação do **grau de variabilidade genética de antígenos ou alvos de fármacos antivirais** com possível impacto no desenvolvimento / eficiência de medidas profiláticas (vacinas) e terapêuticas, bem como **monitorização das mutações em alvos genéticos de testes de diagnóstico**.
- Determinação de possíveis **associações entre perfis genéticos (mutacionais)** do SARS-CoV-2 e **determinadas manifestações clínicas** (ex. diferentes graus severidade da COVID-19) ou diferente **capacidade de transmissão** do vírus.
- Estudar os **mecanismos evolutivos do vírus** e a sua relação com os perfis de disseminação em diferentes regiões de Portugal e em diferentes grupos populacionais.
- **Contribuir para a avaliação da relevância funcional e fenotípica** de mutações particulares.

### Métodos

- **Procedimento Pre-NGS:** adaptado da Artic Network (<https://artic.network/ncov-2019>, <https://www.protocols.io/view/ncov-2019-sequencing-protocol-bbmuik6w>)
- **Procedimento NGS:** Nextera XT e MiSeq (Illumina)
- **Dos "reads" às sequências do genoma:** [INSaFLU](#)
- **Das sequências do genoma à "filogeografia\*":** [Nextstrain](#) (mais detalhes sobre o método em <https://nextstrain.org/ncov> e <https://github.com/nextstrain/ncov>) e [Microreact](#).

*\* O posicionamento geográfico reflecte o local (Distrito – "Admin Division" ou Concelho – "Location") de residência ou, caso não exista informação, local de ocorrência ou da entidade que enviou a amostra.*

### Agradecimentos

- A todos os laboratórios nacionais que enviam amostras clínicas (suspeitas ou positivas para SARS-CoV-2) para o Laboratório Nacional de Referência da Gripe e outros vírus respiratórios do INSA.
- À Sara Hill e Nuno Faria (Universidade de Oxford) e Joshua Quick e Nick Loman (Universidade de Birmingham) por nos terem gentilmente cedido os primers usados no início deste estudo.
- Às equipas dos projectos [Nextstrain](#) e [Microreact](#) pela libertação de algumas ferramentas de bioinformática usadas neste estudo.
- Ao Miguel Pinheiro (iBiMED / Universidade de Aveiro) pelo seu trabalho na atualização da plataforma [INSaFLU](#) para o novo coronavírus SARS-CoV-2.
- À [Infraestrutura Nacional de Computação Distribuída \(INCD\)](#), por ter fornecido recursos computacionais para testar a plataforma INSaFLU. O INCD foi financiado pela FCT e FEDER sob o projeto 22153-01 / SAICT / 2016.

**Este estudo é co-financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia e Agência de Investigação Clínica e Inovação Biomédica no âmbito da primeira e segunda "calls" do programa Research 4 COVID-19 (projectos 234 e 657, respectivamente).**