



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

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

Relatório de situação

2 de Abril de 2021

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P. (INSA) analisou até à data **5758 sequências do genoma do novo coronavírus SARS-CoV-2**, obtidas de amostras colhidas em 89 laboratórios/hospitais/instituições representando 252 concelhos.

Desde o último relatório de 3 de Março de 2021, **foram analisadas mais 1345 sequências (Figura 1)**. Os procedimentos de sequenciação foram realizados no **INSA** (n=505), **Instituto Gulbenkian de Ciência** (IGC) (n=260), **Institute of Biomedicine - iBiMED (Universidade de Aveiro)** (n=226), **BioSystems & Integrative Sciences Institute – BioISI (FCUL, Universidade de Lisboa)** (n=190) e **Instituto de Investigação e Inovação em Saúde - i3S** (n=164). Estas novas sequências incluem:

- 1094 sequências obtidas no âmbito da vigilância de periodicidade mensal com amostragem nacional que o INSA está a coordenar. A amostragem nacional de Março de 2021* envolveu laboratórios distribuídos pelos 18 Distritos de Portugal continental e pelas duas Regiões Autónomas (Madeira e Açores), abrangendo um total de 166 concelhos. Esta amostragem por sequenciação representa 10,4 % das amostras positivas reportadas durante o período em análise* em Portugal.**
- 89 amostras, enviadas para o INSA, no âmbito da solicitação da Saúde Pública por suspeita da presença de variantes de interesse, nomeadamente a 501Y.V2 (linhagem B.1.351, associada à África do Sul) e a 501Y.V3 (linhagem P.1, associada ao Brasil), ou de outros estudos específicos (ex., suspeitas de falha vacinal ou re-infecção).**
- 162 sequências obtidas pelo Institute of Biomedicine - iBiMED (Universidade de Aveiro) de amostras colhidas entre 10 de Janeiro e 26 de Fevereiro de 2021.**

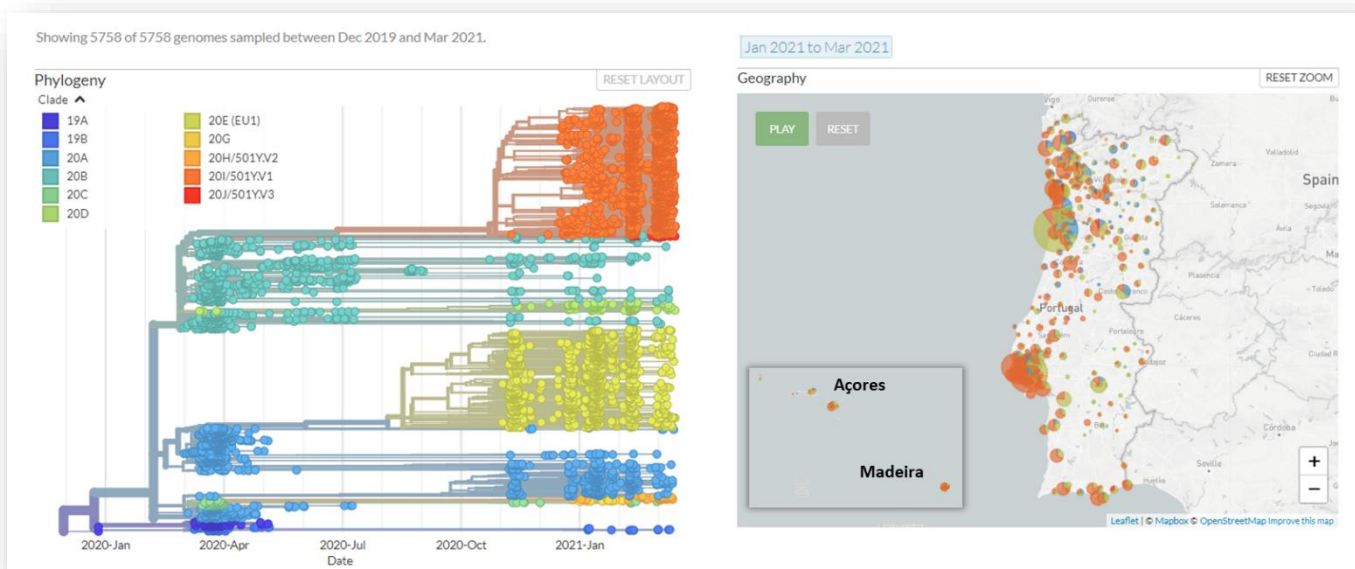


Figura 1. Visão global da diversidade genética e dispersão geotemporal do vírus SARS-CoV-2 em Portugal. Os diferentes genomas (representados por círculos no painel à esquerda) estão coloridos de acordo com a classificação de Clade e com a mesma tonalidade no mapa. O tamanho dos círculos no mapa é proporcional ao número de genomas sequenciados por concelho (consultar o site <https://insaflu.insa.pt/covid19/> para mais detalhes) em 2021.

* A amostragem de Março incidiu nas semanas ISO 9 (entre 1 e 7 de Março) e 10 (7 e 14 de Março). Devido à impossibilidade de alguns laboratórios cumprirem exatamente o período das semanas ISO, foram incluídas algumas amostras com datas de colheita fora deste intervalo, nomeadamente 34 amostras de dia 28 de Fevereiro e 10 amostras de 15 de Março. Isto permitiu garantir uma maior cobertura geográfica, sem comprometer as conclusões



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



Tabela 1. Frequência relativa das principais variantes genéticas do SARS-CoV-2 detectadas na amostragens nacionais de Janeiro, Fevereiro e Março de 2021*, bem como o **número total de sequências** dessas variantes detectadas até à data (n=5758). A **Figura 2** apresenta a **evolução da frequência relativa** dessas variantes desde Novembro de 2020, mantendo a **correspondência de cores** apresentada nas **Tabela 1 e 2**.

Variante / linhagem	Frequência relativa na amostragem nacional, 2021			Total de sequências até à data (n = 5758)	CONTEXTO
	Janeiro (n=532)	Fevereiro (n=861)	Março (n=1094)		
S:D614G+N501Y+H69del/V70del++ (clade 20I; VOC-202012/01; 501Y.V1; linhagem B.1.1.7)	16.0%	58.2%	82.9%	1744	- Esta variante, originalmente detetada no Reino Unido, está associada a uma maior capacidade de transmissão. https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-variant-multiple-spike-protein-mutations-United-Kingdom.pdf
S:D614G+A222V (clade "20E / EU1"; linhagem e sub-linhagens B.1.177)	54.7%	23.5%	8.3%	1336	- 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. https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2
S:D614G+S477N (sub-clade "20A.EU2"; linhagem B.1.160)	13.2%	7.0%	2.5%	333	- 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. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420310035
S:D614G+L452R++ (sub-clade 20D; linhagem C.16)	6.8%	5.1%	0.8%	114	- Esta variante apresenta a mutação L452R, a qual se prevê afectar o domínio de ligação da proteína Spike ao receptor ("RBD") ACE2, podendo mediar resistência a anticorpos neutralizantes. Li et al, 2020, Cell. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0092867420308771
S:D614G+N439Y+H69del/V70del (sub-clade 20A; sub-linhagens B.1.258)	1.7%	0.1%	0.1%	23	- 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. Barnes et al, 2020, Nature https://www.nature.com/articles/s41586-020-2852-1
S:D614G+S98F (sub-clade 20A; linhagem B.1.221)	1.1%	0.5%	0.1%	39	- Esta variante apresentou maior frequência na Bélgica e Holanda, tendo já sido identificada em múltiplos países. Hodcroft et al, medRxiv. https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.25.20219063v2 ; https://github.com/emmahodcroft/cluster_scripts/blob/master/README.md#sn501
S:D614G+E484K++ (clade 20B; linhagem P.2)	0.6%	0.6%	0.1%	18	- Esta variante apresenta uma mutação no domínio de ligação ao receptor ("RBD") ACE2 da proteína Spike, a qual é potencialmente mediadora de resistência a anticorpos neutralizantes (S: E484K). Foi recentemente associada a casos de re-infecção no Brasil. Resende et al, 2021, virological. https://virological.org/t/spike-e484k-mutation-in-the-first-sars-cov-2-reinfection-case-confirmed-in-brazil-2020/584
S:D614G+N501Y+E484K++ (clade 20H; 501Y.V2; linhagem B.1.351)	0.0%	0.1%	2.5%	49	- Esta variante apresenta mutações na proteína Spike, potencialmente mediadoras de uma maior capacidade de transmissão (ex, S: N501Y) e de resistência a anticorpos neutralizantes (ex, S: E484K). Foi detectada pela primeira vez na África do Sul. Tegally et al, 2020, medRxiv. https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.21.20248640v1
S:D614G+N501Y+E484K++ (clade 20J; 501Y.V3; linhagem P.1)	0%	0.4%	0.4%	22	- Esta variante apresenta múltiplas mutações na proteína Spike, potencialmente mediadoras de uma maior capacidade de transmissão (ex, N501Y) e/ou evasão ao sistema imunitário (ex, E484K). Faria et al 2021 https://virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manaus-preliminary-findings/586
S:del141-143+D614G+L452R+ins214-215RD>RAAGY (sub-clade 19B; linhagem A.2.5 (antiga A.2.4))	0.0%	0.0%	0.0%	3	- Esta variante apresenta a mutação L452R, a qual se prevê afectar o domínio de ligação da proteína Spike ao receptor ("RBD") ACE2, podendo mediar resistência a anticorpos neutralizantes. Li et al, 2020, Cell. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0092867420308771
S:D614N+L452R (sub-clade 19B; linhagem A.21)	0.0%	0.6%	0.5%	13	- Esta variante apresenta a mutação L452R, a qual se prevê afectar o domínio de ligação da proteína Spike ao receptor ("RBD") ACE2, podendo mediar resistência a anticorpos neutralizantes. Li et al, 2020, Cell. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0092867420308771
S:D614G+N450K+Q414K+ins214R>RTDR (sub-clade 20A; linhagem B.1.214)	0.0%	0.2%	0.3%	8	- Esta variante apresenta uma mutação (S:N450K) potencialmente mediadora de resistência a anticorpos neutralizantes. Liu et al, 2020, bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2020.11.06.372037
S:D614G+E484K+H69del/V70del+Q677H+F888L++ (sub-clade 20C; linhagem B.1.525)	0.0%	0.0%	0.2%	2	- Esta variante apresenta uma mutação no domínio de ligação ao receptor ("RBD") ACE2 da proteína Spike, a qual é potencialmente mediadora de resistência a anticorpos neutralizantes (S: E484K).
S: D614G+D253G+T95I+A701V++ (sub-clade 20C; linhagem B.1.526)	0.0%	0.0%	0.2%	3	- Linhagem detetada inicialmente e com grande incidência em Nova Iorque, Estados Unidos da América. Até à data, os casos em Portugal não apresentam a mutação E484K, a qual é comum nesta linhagem.
S: D614G+P681H+T716I++ (sub-clade 20C; linhagem B.1.575)	0.0%	0.0%	0.1%	3	- Esta variante apresenta uma mutação, P681H (também presente na variante B.1.1.7), potencialmente associada a resistência a anticorpos neutralizantes Haynes et al, 2021, medRxiv https://doi.org/10.1101/2021.01.06.20248960
S: D614G+E484K+G769V (sub-clade 20B; linhagem R.1)	0.0%	0.0%	0.0%	1	- Esta variante apresenta a mutação E484K potencialmente mediadora de resistência a anticorpos neutralizantes.
OUTRAS	5.9%	3.8%	1.1%	2047	----

* Devido à impossibilidade de alguns laboratórios cumprirem exatamente o período das semanas ISO estipuladas para a amostragem (Janeiro - semana ISO 2; Fevereiro - semana ISO 6; Março - semanas ISO 9 e 10), foram incluídas algumas amostras com datas fora deste intervalo. Isto permitiu garantir uma maior cobertura geográfica, sem comprometer as conclusões

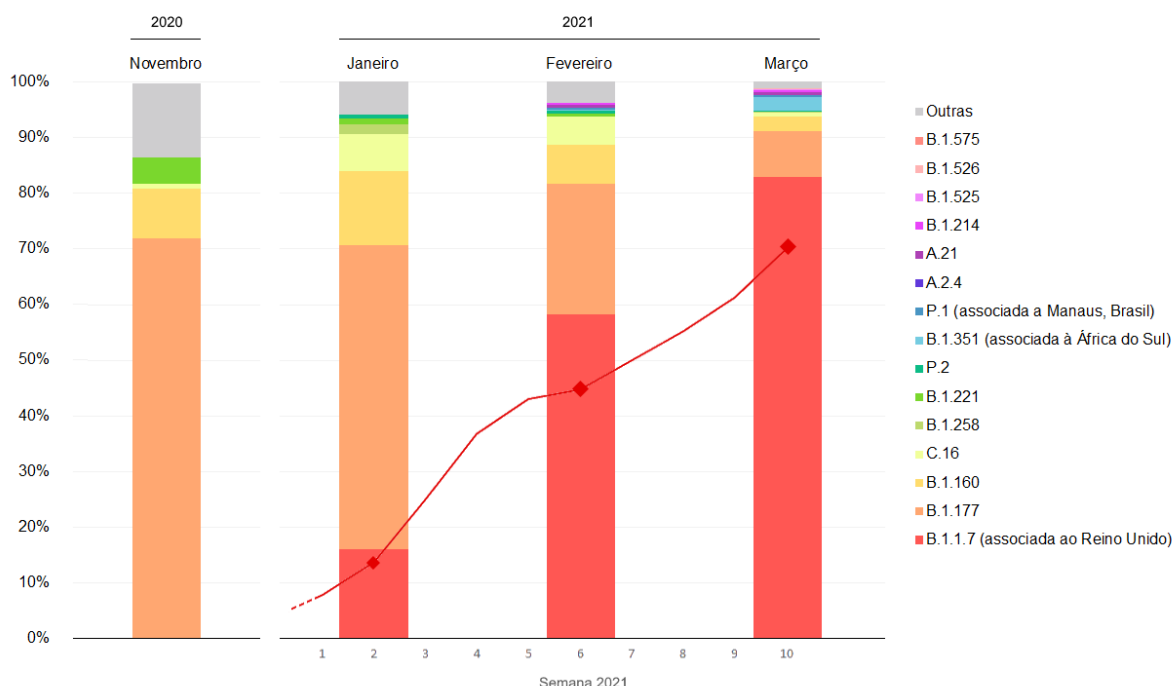


Figura 2. Frequência relativa das variantes de interesse a circular em Portugal, de acordo com as amostragens nacionais de Novembro (2020), Janeiro (2021), Fevereiro (2021) e Março (2021). As barras refletem a frequência relativa de diferentes variantes de interesse de SARS-CoV-2 identificadas no âmbito da vigilância de periodicidade mensal com **amostragem nacional por sequenciação** nos meses de Novembro (n=402; *detalhes no relatório de dia 23.12.2020*), Janeiro (n=532*; *detalhes no relatório de dia 05.02.2021*), Fevereiro (n=861*; *detalhes no relatório de dia 03.03.2021*) e Março (n=1094*). A curva a vermelho reflete a estimativa semanal da frequência da variante **B.1.1.7 (501Y.V1; VOC-202012/01)** a partir de dados de falha na detecção do gene S por RT-PCR, no âmbito do estudo de monitorização contínua desta variante em colaboração com o laboratório Unilabs, Portugal (<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.10.2100130>; <https://virological.org/t/tracking-sars-cov-2-voc-202012-01-lineage-b-1-1-7-dissemination-in-portugal-insights-from-nationwide-rt-pcr-spike-gene-drop-out-data/600/10>).

* Devido à impossibilidade de alguns laboratórios cumprirem exatamente o período das semanas ISO estipuladas para a amostragem (Janeiro - semana ISO 2; Fevereiro - semana ISO 6; Março - semanas ISO 9 e 10), foram incluídas algumas amostras com datas fora deste intervalo. Isto permitiu garantir uma maior cobertura geográfica, sem comprometer as conclusões

Principais destaques:

- A amostragem nacional de Março de 2021 por sequenciação cobriu 10,4% das amostras positivas reportadas durante o período em análise em Portugal, pelo que os dados apresentados refletem de forma robusta o peso das variantes em circulação no actual curso da epidemia no país.
- Nesta actualização do site foram introduzidas novas funcionalidades, incluindo um novo painel interactivo que permite analisar a evolução da proporção das diferentes variáveis (p. ex., clade, linhagem, mutação, etc.) ao longo do tempo.
- A variante **501Y.V1** (VOC-202012/01; linhagem B.1.1.7), associada ao **Reino Unido**, foi **detetada por sequenciação com uma frequência relativa de 82.9% na amostragem nacional** de Março, 2021, continuando



numa trajetória de frequência ascendente, sendo a variante responsável pela grande maioria dos casos de COVID-19 actualmente.

- Foram detetados, até à data, **49 casos da variante 501Y.V2** (linhagem B.1.351), associada à África do Sul, sendo que **27 casos desta variante foram detetados** na amostragem nacional de Março, 2021 (**Tabela 1**). A sua frequência relativa é de 2.5%, o que evidencia um aumento considerável em relação à amostragem de Fevereiro (0.1%). A análise filogeográfica indica que esta variante foi introduzida várias vezes de forma independente em Portugal (**Figura 2**). Não obstante, entre as 49 sequências, identificam-se alguns clusters bem definidos (p.ex., cadeias de transmissão limitadas a agregados familiares ou instituições), sugerindo que a circulação é ainda pouco frequente na comunidade.
- Foram detetados, até à data, **22 casos da variante P.1 (501Y.V3)**, associada ao Brasil, Manaus), sendo que apenas **quatro casos desta variante foram detetados** na amostragem nacional de Março, 2021 (**Tabela 1**), mantendo a mesma frequência relativa (0.4%) observada em Fevereiro. Esta observação sugere que **a circulação desta variante é muito limitada em Portugal**.
- A **variante P.2, também detetada inicialmente no Brasil** e portadora da **mutação E484K** na proteína spike, revelou um decréscimo na sua frequência relativa na amostragem de Março, tendo sido detetado **apenas um caso entre as 1094 sequências analisadas**.
- Foi também observado um grande decréscimo na frequência relativa da **variante C.16, portadora da mutação L452R na proteína Spike, passando de 5-7% em Janeiro/Fevereiro para 0.8% em Março**.
- Na **Tabela 1**, destaca-se, ainda, a deteção, pela primeira vez, das **variantes B.1.525, B.1.526, B.1.575 e R.1**, as quais suscitam interesse pelo **conjunto de mutações** que apresentam e/ou pela sua **vincada circulação noutros países**. Todas estas variantes foram detetadas com **frequências relativas abaixo de 0.5%**.

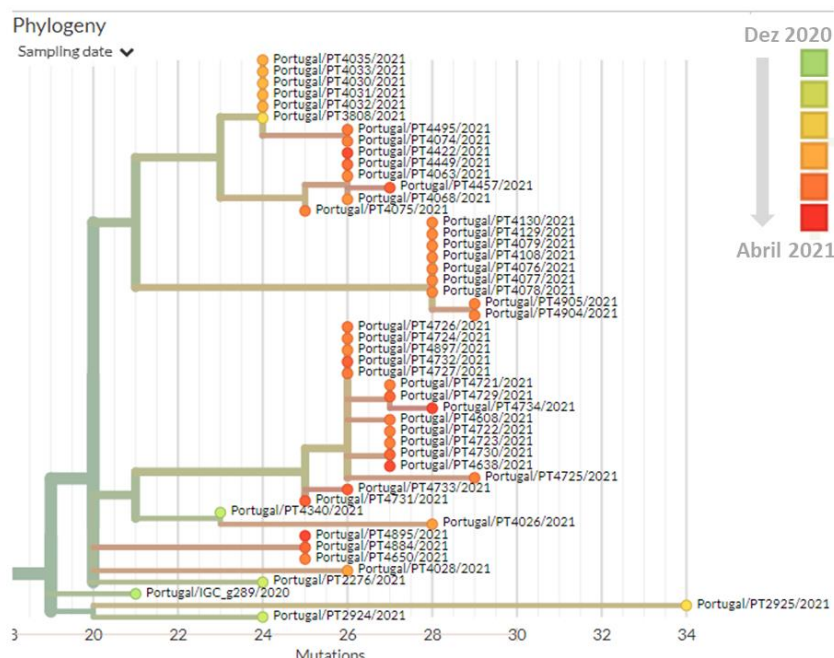


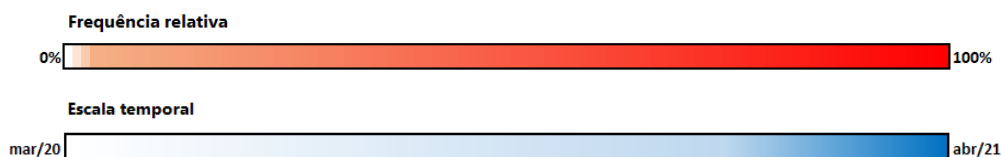
Figura 2. Detalhe da diversidade genética da variante B.1.351 (501Y.V2, associada à África do Sul) em Portugal. Os diferentes genomas (representados por círculos) estão coloridos de acordo com a data de colheita. Até à data, foram analisadas 49 sequências desta variante (<https://insaflu.insa.pt/covid19/>).



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



Tabela 2. Sumário do número de sequências, frequência relativa e dispersão temporal e geográfica de todas as variantes/linhagens detetadas até à data em Portugal.



Cot	Variante / linhagem	data 1ª amostra	data amostra mais recente	nº Distritos [#]	nº Concelhos	Frequência relativa na amostragem nacional				nº sequências até à data
						Nov 2020 (N = 402)	Jan 2021 (N = 532)	Fev 2021 (N = 861)	Mar 2021 (N = 1094)	
	B.1.1.7	09/11/2020	15/03/2021	20	189		16%	58%	83%	1744
	B.1.177*	02/11/2020	15/03/2021	20	205	72%	55%	23%	8%	1336
	B.1.160*	08/11/2020	13/03/2021	18	98	9%	13%	7%	2%	333
	B.1.351	26/12/2020	13/03/2021	7	23				2%	49
	C.16	14/11/2020	15/03/2021	13	50	1%	7%	5%	1%	114
	A.21	07/01/2021	11/03/2021	2	4			1%	1%	13
	B.1.1	01/03/2020	10/03/2021	20	113	4%	1%	1%	0%	819
	P.1	09/02/2021	15/03/2021	5	9			0%	0%	22
	B.1.214.2	15/01/2021	04/03/2021	1	4		1%			8
	B.1.1.70	25/03/2020	04/03/2021	1	4					7
	B.1.525	05/03/2021	06/03/2021	1	1					2
	B.1.526*	18/02/2021	04/03/2021	2	2					3
	AD.2 (B.1.1.315.2)	09/11/2020	10/03/2021	5	6	1%				7
	B.1	01/03/2020	14/03/2021	18	106	3%	1%	1%		438
	B.1.1.159	15/01/2021	05/03/2021	1	2					3
	B.1.221	09/11/2020	12/03/2021	12	25	5%	1%	0%		39
	B.1.258*	08/11/2020	01/03/2021	8	12		2%			23
	B.1.36.31	23/12/2020	02/03/2021	3	4					4
	B.1.575*	09/02/2021	01/03/2021	2	3					3
	B.1.78	01/03/2021	01/03/2021	1	1					1
	P.2	23/12/2020	03/03/2021	4	10		1%	0%		18
	A	20/03/2020	28/03/2020	2	4					6
	A.2	09/03/2020	06/05/2020	10	16					28
	A.2.2	25/03/2020	25/03/2020	1	1					2
	A.2.5	07/01/2021	08/01/2021	1	1					3
	R.1 (B.1.1.316.1)	10/03/2021	10/03/2021	1	1					1
	A.5	20/03/2020	02/04/2020	3	3					7
	AJ.1 (B.1.1.240.1)	08/11/2020	17/01/2021	3	6	1%	1%			13
	B	09/03/2020	13/11/2020	11	20					35
	B.1.1.1	13/03/2020	08/02/2021	3	6					7
	B.1.1.134	11/02/2021	11/02/2021	1	1					1
	B.1.1.194	24/03/2020	24/03/2020	1	1					1
	B.1.1.198	28/03/2020	08/02/2021	5	10					29
	B.1.1.257	18/03/2020	24/03/2020	1	1					2
	B.1.1.269	19/05/2020	10/07/2020	1	6					16
	B.1.1.272	14/02/2021	14/02/2021	1	1					1
	B.1.1.28	28/04/2020	11/02/2021	7	14	2%	1%			18
	B.1.1.33	16/03/2020	12/02/2021	5	8					10
	B.1.1.37	10/11/2020	23/12/2020	4	4					4
	B.1.1.394	21/06/2020	02/09/2020	2	3					41
	B.1.1.401	01/06/2020	26/11/2020	4	8					16
	B.1.1.410	19/05/2020	11/07/2020	2	5					21
	B.1.1.420	08/01/2021	09/02/2021	2	3					5
	B.1.1.421	27/05/2020	09/07/2020	2	8					25
	B.1.1.434	11/01/2021	11/01/2021	1	1					1
	B.1.1.462	25/03/2020	25/03/2020	1	1					1



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



Cor

Frequência relativa na amostragem nacional									
Variante / linhagem	data 1ª amostra	data amostra mais recente	nº Distritos [#]	nº Concelhos	Nov 2020 (N = 402)	Jan 2021 (N = 532)	Fev 2021 (N = 861)	Mar 2021 (N = 1094)	nº sequências até à data
B.1.1.464	31/12/2020	31/12/2020	1	1					1
B.1.1.88	20/03/2020	28/03/2020	2	6					16
B.1.13	11/04/2020	11/04/2020	1	1					1
B.1.2	01/01/2021	03/02/2021	1	2			1%		16
B.1.201	28/03/2020	28/03/2020	1	1					1
B.1.216*	09/11/2020	09/02/2021	4	9		1%			12
B.1.22	18/03/2020	20/03/2020	1	2					2
B.1.224	16/03/2020	16/03/2020	1	1					2
B.1.23	28/03/2020	28/03/2020	1	1					1
B.1.241*	08/11/2020	15/11/2020	3	3	0%				4
B.1.277	21/03/2020	01/04/2020	8	11					14
B.1.350	25/03/2020	01/04/2020	1	2					5
B.1.356	19/03/2020	30/03/2020	3	5					10
B.1.367	10/11/2020	09/02/2021	4	6	1%				9
B.1.409	16/01/2021	16/01/2021	1	1					1
B.1.416.1	11/01/2021	11/01/2021	1	1					1
B.1.465	21/03/2020	21/03/2020	1	1					1
B.1.499	08/01/2021	08/01/2021	1	1					1
B.1.609	25/03/2020	25/03/2020	1	1					1
B.1.8	19/03/2020	31/03/2020	1	3					4
B.1.91	07/03/2020	02/05/2020	11	43					293
B.23	10/03/2020	27/03/2020	1	4					8
B.29	21/03/2020	21/03/2020	1	1					1
B.3	18/03/2020	30/03/2020	2	3					6
B.35	22/03/2020	22/03/2020	1	1					1
B.38	21/03/2020	21/03/2020	1	1					1
B.40	11/03/2020	08/04/2020	5	13					47
B.44	17/03/2020	30/04/2020	3	3					10
B.55	17/03/2020	21/03/2020	1	1					3
B.58	15/03/2020	15/03/2020	1	1					1
B.59	27/03/2020	30/03/2020	2	2					2
B.6	05/04/2020	05/04/2020	2	2					2

As contagens referem-se aos Distritos de Portugal Continental e às duas Regiões Autónomas.

*Inclui linhagens e sub-linhagens. Mais informações em <https://cov-lineages.org/>

- As actividades de vigilância laboratorial do SARS-CoV-2 continuarão em articulação com as autoridades de Saúde, mantendo especial foco na detecção de novas introduções e monitorização de variantes a suscitar particular interesse pela comunidade científica e autoridades de Saúde.
- Neste âmbito, destaca-se a recente publicação do Diário da República (**Despacho n.º 331/2021 - Diário da República n.º 6/2021, Série II de 2021-01-11**), a qual determina o reforço da vigilância laboratorial genética e antigénica do vírus SARS-CoV-2, sob coordenação do INSA.

Mais detalhes do estudo da diversidade genética do novo coronavírus SARS-CoV-2 em Portugal, incluindo objectivos, metodologias, colaborações, entre outros, podem ser consultados em <https://insaflu.insa.pt/covid19/>