



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

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

Relatório de situação

14 de Dezembro de 2021

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P. (INSA) analisou até à data **23068** sequências do genoma do vírus SARS-CoV-2, obtidas de amostras colhidas em mais de 100 laboratórios/hospitais/instituições representando 303 concelhos.

No âmbito da monitorização contínua da diversidade genética do SARS-CoV-2, têm vindo a ser analisadas uma média de **538** sequências por semana desde o início de Junho de 2021. Estas sequências foram obtidas de amostras colhidas aleatoriamente em laboratórios distribuídos pelos **18 Distritos de Portugal continental e pelas Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira**, abrangendo uma média de 129 concelhos por semana (**Figuras 1 e 2**).

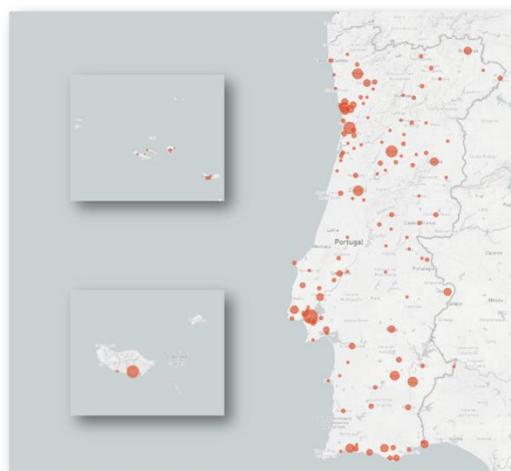


Figura 1. Cobertura geográfica (a nível do Concelho) da última amostragem semanal de âmbito nacional, a qual permitiu obter 535 novas sequências do genoma de SARS-CoV-2, representando 138 concelhos.

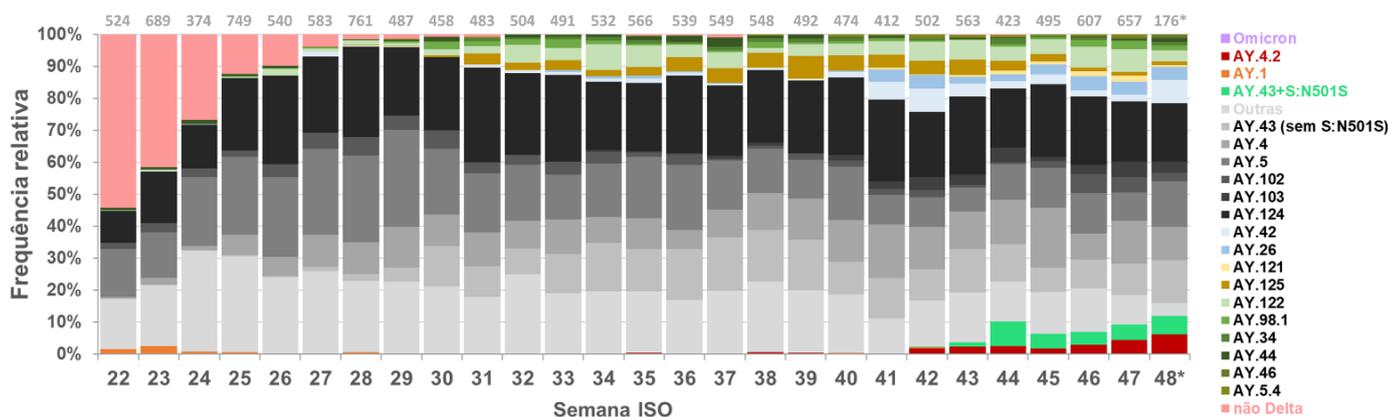


Figura 2. Evolução da frequência relativa semanal das (sub)-linhagens de SARS-CoV-2 em circulação em Portugal entre as semanas ISO 22 (31 de maio a 6 de junho) e 48 (29 de novembro a 5 de dezembro) de 2021. Os valores acima de cada barra indicam o número de sequências avaliadas por semana no âmbito das amostragens aleatórias nacionais. *É de esperar a existência de algumas flutuações nas frequências apresentadas para a última semana em análise (semana ISO 48), na medida em que ainda estão a ser apurados dados relativos a esse período.

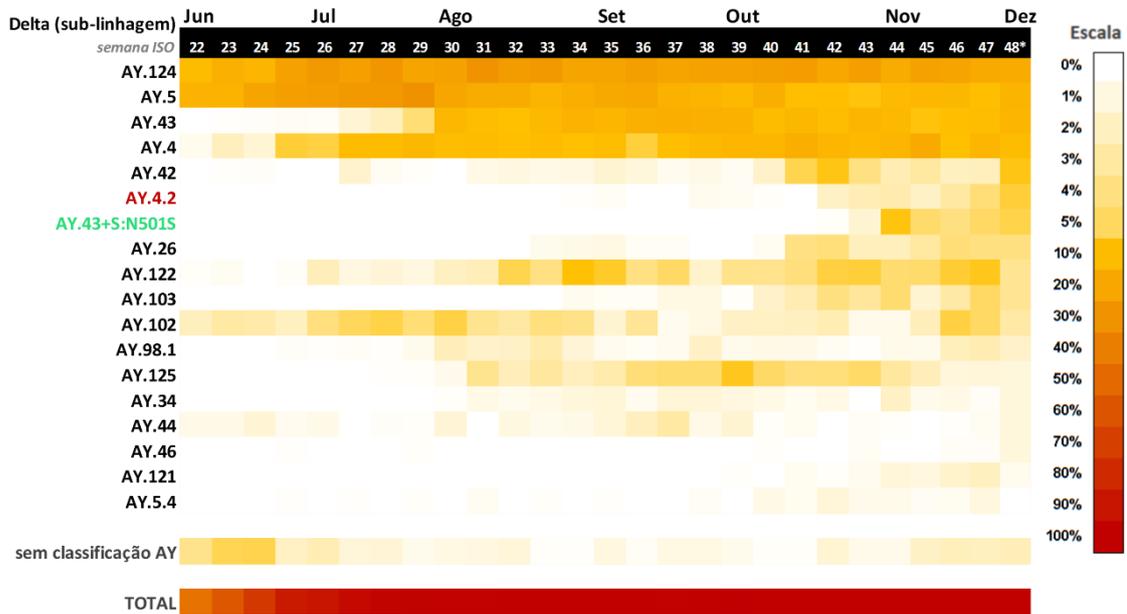


Figura 3. Detalhe da evolução da frequência relativa semanal das sub-linhagens da variante Delta em circulação em Portugal. As sub-linhagens estão ordenadas de cima para baixo de acordo com a sua frequência relativa na última semana em análise (ISO 48). Estão representadas as 18 linhagens com uma frequência relativa de pelo menos 1% na última semana fechada (ISO 47) ou na semana em análise (ISO 48). De entre as restantes 84 sublinhagens (AY) da variante Delta detectadas até à data, e não apresentadas neste *heatmap*, apenas três foram detectadas na última semana em análise (ISO 48), representando, no seu conjunto, apenas 1,7% das sequências analisadas no mesmo período.

*Nota: A classificação da variante Delta em sub-linhagens é baseada no sistema de nomenclatura Pango (<https://www.pango.network/>), a qual apoia a monitorização da diversidade genética, potenciando a deteção precoce de variantes de interesse. Esta classificação não tem como premissa a existência de diferenças funcionais no vírus, regendo-se unicamente por critérios genéticos e/ou epidemiológicos.

As sub-linhagens apresentadas foram obtidas após classificação de todas as sequência Delta com o software pangolin (<https://github.com/cov-lineages/pangolin>) com as seguintes versões: pangolin v3.1.17; pangolearn 2021-11-25; scorpio v0.3.15; pango-designation v1.2.101; constellations v.0.0.29.

Principais destaques:

- Nas **semanas ISO 46 e 47** (entre 15 e 28 de novembro), com amostragens fechadas e análises concluídas, registou-se uma **frequência relativa de 100% e 99,8%** para a **variante Delta (B.1.617.2)**, respectivamente (**Figura 2, Figura 3**). Na **semana ISO 48** (29 de novembro a 5 de dezembro), apesar de a variante Delta apresentar uma **frequência relativa de 100%**, este valor é **provisório** pois os dados ainda estão a ser apurados (**Figura 2, Figura 3**).
- As **Figuras 3 e 4** apresentam a **evolução da frequência relativa semanal das diversas sub-linhagens da variante Delta** (definidas com o prefixo "AY.") **a nível nacional e regional**, respetivamente. Esta sub-classificação, através do agrupamento de vírus com maior proximidade genética/epidemiológica entre si, facilita a monitorização contínua da evolução genética e dispersão geo-temporal de SARS-CoV-2, potenciando a deteção precoce de novas constelações de mutações (i.e., variantes) de interesse. **A discriminação em sub-linhagens não indica que estas apresentem diferenças funcionais (i.e., maior transmissibilidade, associação a doença severa, maior capacidade de evasão ao sistema imunitário, etc.).** É de notar que esta nomenclatura se encontra em constante revisão e refinamento pela *network* responsável por este sistema (<https://www.pango.network/>) (isto é, espera-se a supressão e/ou adição de sub-linhagens nas próximas atualizações, com consequente re-classificação de algumas sequências).

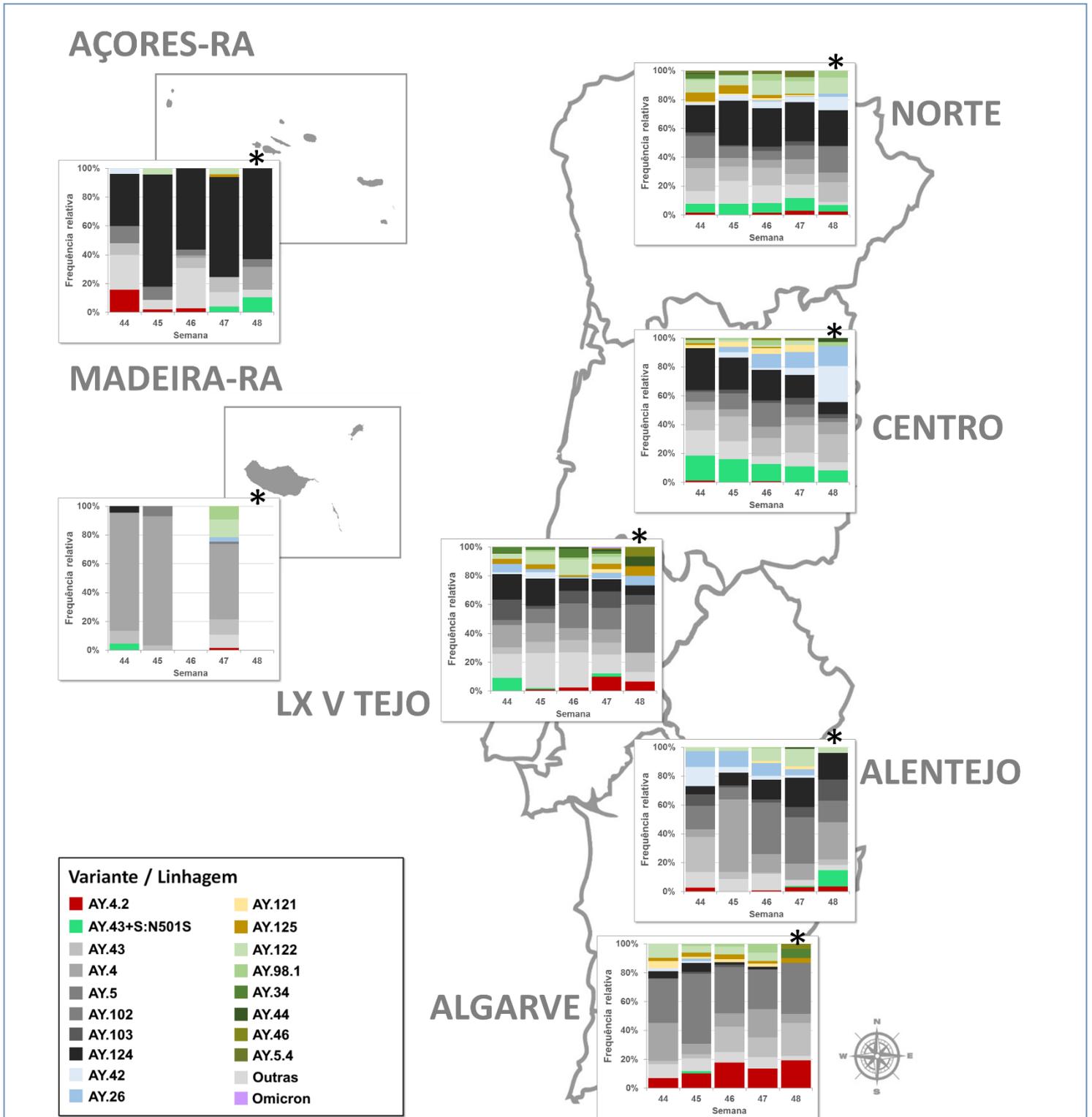


Figura 4. Evolução da frequência relativa semanal das linhagens por Região de Saúde, entre as semanas ISO 44 (1 a 7 de novembro) e 48 (29 de novembro a 5 de dezembro), 2021. Estão representadas as sub-linhagens da variante Delta com uma frequência relativa de pelo menos 1% na última semana fechada (ISO 47) ou na semana em análise (ISO 48*).

* É de esperar a existência de algumas flutuações nas frequências apresentadas para a última semana em análise (semana ISO 48), na medida em que ainda estão a ser apurados dados relativos a esse período. Em particular, à data de fecho deste relatório, não foram disponibilizadas amostras da semana 46 da Região Autónoma da Madeira e a amostragem da semana 48 é insuficiente para avaliação da frequência.



- Em Portugal, as **13563 sequências Delta analisadas até à data** dividem-se actualmente em mais de 100 sub-linhagens (**Figuras 3 e 4**). Da monitorização contínua destas sub-linhagens destacam-se as seguintes observações:
 - **Circulam atualmente diversas sub-linhagens da variante Delta em Portugal**, sendo que 33 destas foram detetadas consecutivamente nas últimas 3 semanas com amostragens fechadas e análises concluídas (semanas ISO 45 a 47) ou na actual semana em análise (semana ISO 48).
 - **AY.43 com uma mutação adicional (N501S) na proteína Spike**: após uma subida abrupta na sua frequência relativa a nível nacional, potencialmente desencadeada por um evento de "*super-spreading*" (ver relatórios anteriores), esta sub-linhagem tem representado, nas últimas semanas, cerca de 5% de todas as sequências analisadas (**Figura 2**), ilustrando a continuidade da sua circulação, a qual é mais marcada nas **Regiões Norte e Centro (Figura 4)**. Recentemente, foi observado também um aumento de circulação na Região do Alentejo e Região Autónoma dos Açores. Este perfil genético foi já detetado em outros países (Suíça, Israel, Espanha, Itália, e Bélgica), pelo que, para facilitar a monitorização da sua disseminação geo-temporal, foi recentemente classificada como sub-linhagem AY.43.5.
 - **AY.4.2**: esta sub-linhagem tem revelando uma frequência relativa tendencialmente crescente de **1,8%** (semana 42) **para 6,3%** (semana 48, 29 de novembro a 5 de dezembro; dados em apuramento) (**Figura 2**). Mantém uma **maior circulação na Região do Algarve (Figura 4)**, estando, no entanto, a aumentar a sua frequência em outras regiões, em particular na Região de Lisboa e Vale do Tejo e na Região Autónoma da Madeira. A investigação genética tem revelado várias introduções independentes desta sub-linhagem em Portugal, bem como a existência de cadeias de transmissão ativas.
 - **Sub-linhagens com a mutação de interesse E484Q**: nas últimas amostragens registou-se a deteção de casos associados ao perfil Delta+S:E484Q (diversas sub-linhagens), apontando para a **ocorrência recente de, pelo menos, 3 surtos** (não relacionados entre si) nos distritos de Évora e Porto e na Região Autónoma dos Açores. Nas mais recentes amostragens confirma-se a continuidade destas cadeias de transmissão, em particular aquelas detetadas no Porto e em Évora (**Figura 4**). A ocorrência de mutações na posição 484 da proteína Spike na variante Delta tem sido rara, contudo é alvo de monitorização apertada a nível internacional dado o seu papel potencialmente mediador de resistência a anticorpos neutralizantes e a sua associação a outras variantes de preocupação (Beta, Gamma e Omicron).
- **Variante Omicron (BA.1)**
 - A [variante de preocupação](#) Omicron (linhagem BA.1) foi recentemente identificada em países da África austral, tendo sido entretanto detetada em vários países à escala global. Caracteriza-se por um elevado número de mutações de interesse na proteína Spike, incluindo mutações reconhecidas pelo seu envolvimento na ligação ao receptores das células humanas e/ou a anticorpos neutralizantes.



- Para identificação molecular da variante Omicron estão em curso diferentes estratégias:
 - i) **Amostragens aleatórias semanais de âmbito nacional por sequenciação total do genoma;**
 - ii) **Investigação de amostras associadas a casos suspeitos** (definidos por critérios epidemiológicos ou laboratoriais) **através da pesquisa dirigida (por PCR) de mutações, ou combinações de mutações**, desta VOC, a qual constitui uma abordagem rápida e de elevado valor preditivo. A sequenciação total do genoma viral de amostras já confirmadas por pesquisa de mutações será aplicada sempre que seja necessária uma caracterização epidemiológica e/ou genética mais robusta (p.ex., investigação da origem da introdução ou caracterização de surtos).
 - iii) **Monitorização em tempo-real da “falha” na detecção do gene S.** Um dos critérios laboratoriais utilizados para identificar casos suspeitos de variante Omicron é a **detecção de amostras positivas com “falha” na detecção do gene S (SGTF – S gene target failure)** observado em alguns kits de diagnóstico por PCR em tempo real (TaqPath - ThermoFisher). Este “artefacto”, o qual não afecta a performance do teste de diagnóstico, ocorre devido à existência de uma deleção (del69-70) em algumas variantes (nomeadamente Alpha e Omicron). Dada a raridade desta deleção na variante Delta (dominante nos últimos meses), a **falha do gene S está a ser utilizada para monitorizar/inferir a frequência e dispersão geotemporal da variante Omicron**, à semelhança do que foi efetuado no início da disseminação da variante Alpha ([link](#)).
- Em Portugal, **com base nas amostragens aleatórias semanais de âmbito nacional sujeitas a sequenciação do genoma viral, foi detetada a variante Omicron na semana 47 (22 a 28 de Novembro), registando uma frequência relativa de 0.2%**. Até à data, estão identificados um total de 69 casos da variante Omicron por pesquisa dirigida de mutações e/ou sequenciação do genoma viral (pesquisa de casos suspeitos definidos por critérios epidemiológicos ou laboratoriais).
- No âmbito da estratégia de **monitorização em tempo-real da “falha” na detecção do gene S**, em colaboração com a UNILABS, a Cruz Vermelha Portuguesa e o Algarve Biomedical Center (laboratórios que utilizam o teste de diagnóstico que permite esta avaliação), foi possível reunir os dados referentes ao período de 25 de novembro a 12 de dezembro (**Figura 5**). Esta análise aponta para uma **tendência crescente na proporção de casos positivos com falha do gene S (“perfil SGTF”) desde o dia 6 de dezembro, atingindo uma frequência relativa de 9.5% no dia 12 de dezembro (Figura 5)**. Esta tendência, em particular a observada nos últimos três dias, é fortemente indicadora da existência de circulação comunitária da variante Omicron neste período, em forte paralelismo com o cenário observado em outros países que estão a utilizar a mesma abordagem para vigilância desta variante (ex., [Dinamarca](#) e [Reino Unido](#)). É de ressaltar que a detecção anterior de vários casos de “falha de S” no final de novembro (**Figura 5, pontos a rosa**) é consistente com a identificação da variante Omicron no mesmo período através da análise de amostras suspeitas (pesquisa dirigida de mutações e/ou sequenciação do genoma viral) e amostras colhidas aleatoriamente a nível nacional para sequenciação. Contudo, a tendência observada na análise SGTF sugerem que a identificação da variante Omicron no final de novembro/início de dezembro estará mais provavelmente associada a casos esporádicos ou clusters específicos do que a uma transmissão comunitária abrangente, a qual é inequívoca actualmente.



data de colheita	n.º testes positivos	n.º SGTF	% SGTF
25/11/2021	482	3	0,6
26/11/2021	556	12	2,2
27/11/2021	421	17	4,0
28/11/2021	462	7	1,5
29/11/2021	404	4	1,0
30/11/2021	118	0	0,0
01/12/2021	42	0	0,0
02/12/2021	61	0	0,0
03/12/2021	51	0	0,0
04/12/2021	32	0	0,0
05/12/2021	16	0	0,0
06/12/2021	710	11	1,5
07/12/2021	872	11	1,3
08/12/2021	568	32	5,6
09/12/2021	923	30	3,3
10/12/2021	717	42	5,9
11/12/2021	604	36	6,0
12/12/2021	529	50	9,5

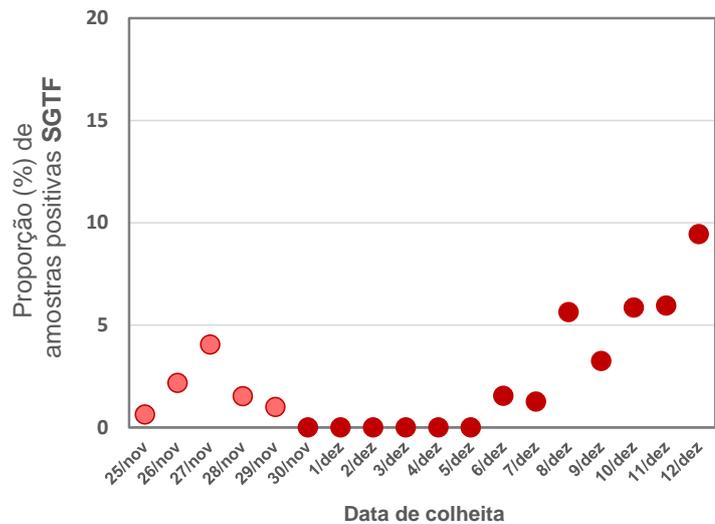


Figura 5. Evolução da proporção de amostras positivas com falha do gene S (SGTF – S gene target failure) durante o período de 25 de novembro a 12 de dezembro num universo de 7568 testes PCR positivos detetados com o kit TaqPath (ThermoFisher) nos laboratórios da UNILABS, Cruz Vermelha Portuguesa e Algarve Biomedical Center. Esta análise envolve apenas testes positivos com *Cycle threshold* ≤ 30 para os genes N e ORF1ab.

- No [site](#) podem ser consultadas **tabelas dinâmicas que sumarizam a frequência e dispersão geotemporal das variantes/linhagens identificadas até à data e as mutações de interesse na proteína Spike** em cada uma delas.

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 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/>