



RELATÓRIO TÉCNICO 2021/03 - REDE GENÔMICA FIOCRUZ / MINISTÉRIO DA SAÚDE

Rede Genômica Fiocruz, Ministério da Saúde

Instituto Oswaldo Cruz (IOC), FIOCRUZ

Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo (LVRS)/ IOC. Referência Nacional para Coronavírus do Ministério da Saúde e Regional para Organização Mundial de Saúde

Departamento de Entomologia e Núcleo de Bioinformática, Instituto Aggeu Magalhães (IAM), FIOCRUZ

Laboratório de Ecologia de Doenças Transmissíveis na Amazônia, Instituto Leônidas e Maria Deane, FIOCRUZ, Manaus, Amazonas, Brasil

Plataforma de Vigilância Molecular, Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz, Salvador, Bahia

Coordenação Geral de Laboratórios e Grupo Técnico em Influenza, COVID-19 e outros vírus respiratórios, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde (CGPNI/DEIDT/SVS/MS)

A epidemia de SARS-CoV-2 no Brasil durante a maior parte de 2020 foi dominada por duas linhagens designadas como B.1.1.28 e B.1.1.33 (1, 2). Duas variantes do SARS-CoV-2 que abrigam mutações no domínio de ligação da proteína Spike (S), designadas como linhagens P.1 e P.2, evoluíram a partir da linhagem B.1.1.28 e estão se espalhando rapidamente no Brasil (3, 4). A linhagem P.1 é considerada uma variante de preocupação (VOC) devido à presença de múltiplas mutações na proteína S (incluindo K417T, E484K, N501Y), enquanto a linhagem P.2 só contém a mutação S: E484K e é considerada uma variante de interesse (VOI). Nosso levantamento genômico de amostras positivas para SARS-CoV-2 sequenciadas pela Rede de Vigilância Genômica COVID-19 da Fiocruz (<http://www.genomahcov.fiocruz.br/>) entre 12 de março de 2020 e 28 de fevereiro de 2021 identificou novas variantes com mutações de interesse na proteína S que têm

uma baixa prevalência (<5%) na população brasileira, mas cuja disseminação deve ser acompanhada de perto.

1) **Emergência da linhagem N.9**

Nosso levantamento genômico identificou 34 sequências de SARS-CoV-2 pertencentes à linhagem B.1.1.33 contendo a mutação de interesse S: E484K (**Tabela 1**). A análise filogenética revelou que 32 sequências B.1.1.33 (E484K) formam um clado monofilético que identifica uma nova VOI designada como linhagem N.9 (5). Esta designação de linhagem se deu a partir da solicitação feita pela rede genômica FIOCRUZ ao sistema de classificação PANGO (<https://github.com/cov-lineages/pango-designation/issues/26#event-4465814930>). A VOI N.9 é caracterizada por quatro mutações definidoras de linhagem não sinônimas (NSP3: A1711V, NSP6: F36L, S: E484K e NSP7b: E33A), sendo apenas uma delas na proteína S (**Tabela 1**). A VOI N.9 provavelmente surgiu em agosto de 2020 e se espalhou por diferentes estados brasileiros das regiões Sudeste, Sul, Norte e Nordeste, sendo detectada pela primeira vez no estado de São Paulo em 11 de novembro de 2020, e logo depois em outros estados brasileiros do Sul (Santa Catarina), Norte (Amazonas e Pará) e Nordeste (Bahia, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Sergipe) (5).

Tabela 1. Mutações definidoras da linhagem N.9.

| Região genômica (proteína) | Nucleotídeo | Aminoácido |
|----------------------------|-------------|-----------------|
| ORF1a | G1264T | - |
| ORF1a | C7600T | - |
| ORF1a (NSP3) | C7851T | A2529V (A1711V) |
| ORF1a (NSP6) | T11078C | F3605L (F36L) |
| Spike (S) | G23012A | E484K |
| ORF7b (NSP7b) | A27853C | E33A |

2) ***Emergência de VOC/VOI do SARS-CoV-2 com inserções e deleções (indels) no domínio amino (N)-terminal da proteína Spike***

Mutações no domínio de ligação ao receptor (RBD) e no domínio amino (N) - terminal (NTD) da proteína S podem alterar a antigenicidade e promover escape imunológico (6). As VOCs identificadas no Reino Unido (linhagem B.1.1.7) e na África do Sul (linhagem B.1.351) apresentam uma combinação de mutações de interesse no domínio de ligação ao receptor (RBD) (K417T, E484K, N501Y) assim como indels no domínio NTD (Δ 144 e Δ 242-244) na proteína S (6). Estas últimas alteram o super-sítio antigênico da NTD e tornam mais difícil a neutralização por anticorpos monoclonais e soros policlonais. As VOC/VOI identificadas até o momento no Brasil apresentam as mesmas mutações no domínio RBD das outras VOCs, mas nenhuma deleção no domínio NTD da proteína S tinha sido descrita até o momento.

Nosso levantamento genômico identificou 11 sequências SARS-CoV-2 de cinco estados brasileiros (Amazonas, Bahia, Maranhão, Paraná e Rondônia) que abrigam uma combinação variável de mutações no domínio de ligação ao receptor (RBD) (K417T, E484K, N501Y) e indels no domínio NTD da proteína S (**Tabela 2**). Uma sequência VOI P.2 e uma sequência VOC P.1 exibiram uma deleção de um aminoácido (Δ 144), duas sequências VOC P.1 exibiram uma deleção de quatro aminoácidos (Δ 141-144), uma sequência VOC P.1 contém uma deleção de dois aminoácidos (Δ 189-190); duas sequências B.1.1.33 (E484K) apresentaram três deleções distintas (Δ 141-144, Δ 211 e Δ 256-258), e quatro sequências B.1.1.28 exibiram uma inserção de quatro aminoácidos (214ANRN). As variantes B.1.1.28 ins214ANRN compartilham seis das 10 mutações definidoras de linhagem P.1 na proteína S (L18F, P26S, D138Y, K417T, E484K, N501Y), bem como mutações definidoras de linhagem P.1 em as proteínas NSP3 (K977Q), NS3 (S253P) e N (P80R), e foram definidas como variantes P.1-*like*, ou seja, similares à P.1. A inspeção das sequências disponíveis na base de dados EpiCoV do GISAID (<https://www.gisaid.org/>) em 1º de março de 2021 revelou uma sequência B.1.1.28 do estado do Amazonas e três sequências P.1 do estado da Bahia com a deleção Δ 144 (**Tabela 2**). Todas as três sequências P.1 Δ 144 da Bahia foram recuperadas de indivíduos que relataram histórico de viagem ao estado do Amazonas (7).

Table 2. Variantes de SARS-CoV-2 com indels no domínio NTD da proteína S identificadas no Brasil.

| Amostra | Linhagem | NTD Indel | RBD | GISAID ID |
|-----------------------------|------------------------|------------------|-------------------------|-----------------|
| AM-FIOCRUZ-20842572LS/2020* | B.1.1.28 | Δ144 | - | EPI_ISL_1068132 |
| MG-FIOCRUZ-8180/2021 | P.2 | Δ144 | E484K | EPI_ISL_1219137 |
| BA53* | P.1 | Δ144 | K417T | EPI_ISL_1067729 |
| BA54* | | | E484K | EPI_ISL_1067733 |
| BA55* | | | N501Y | EPI_ISL_1067734 |
| BA-FIOCRUZ-7029/2021* | | | | EPI_ISL_1219136 |
| AL-FIOCRUZ-4795/2021* | P.1 | Δ141-144 | K417T | EPI_ISL_1219134 |
| PR-FIOCRUZ-5273/2021 | | | E484K N501Y | EPI_ISL_1219133 |
| AL-FIOCRUZ-4786/2021* | P.1 | Δ189-190 | K417T E484K N501Y | EPI_ISL_1219135 |
| MA-FIOCRUZ-6871/2021 | B.1.1.33 (E484K) | Δ141-144 | V445A | EPI_ISL_1068256 |
| MA-FIOCRUZ-6874/2021 | | Δ211 Δ256-258 | E484K | |
| AM-FIOCRUZ-20897269OP* | B.1.1.28 (P.1-like) | ins214AN RN | K417T | EPI_ISL_1068256 |
| AM-FIOCRUZ-20897281WS* | | | E484K | EPI_ISL_1219132 |
| AM-FIOCRUZ-21840593CL* | | | N501Y | EPI_ISL_1261122 |
| PR-FIOCRUZ-5241/2021 | | | | EPI_ISL_1261123 |

*Pacientes do Amazonas ou com histórico de viagem ao Amazonas.

Conclusões

Nossos resultados sugerem que o SARS-CoV-2 está continuamente se adaptando e que novas variantes de preocupação e/ou interesse com mutações na proteína S estão emergindo no Brasil.

A mutação S: E484K foi identificada como uma das substituições mais importantes que podem contribuir para a evasão imunológica em indivíduos convalescentes e vacinados. Nossos achados indicam que as variantes S:E484K provavelmente surgiram simultaneamente entre julho e agosto de 2020 nas linhagens B.1.1.28 e B.1.1.33, as mais prevalentes circulando no Brasil naquele momento, acelerando sua disseminação após outubro de 2020, coincidindo com uma grande mudança no perfil de evolução do SARS-CoV-2 no mundo.

Identificamos também a emergência de deleções e inserções no NTD da proteína S em linhagens de SARS-CoV-2, algumas delas já possuindo mutações preocupantes no RBD. Estas novas alterações podem ter evoluído para escapar dos anticorpos neutralizantes dirigidos contra o super-sítio antigênico da NTD. A acumulação sequencial de mutações e deleções observadas no Brasil recapitula o padrão observado na África do Sul, onde o VOC B.1.351 adquiriu primeiro as mutações no domínio RBD (E484K e N501Y) e posteriormente uma deleção no

domínio NTD (Δ 242-244). Estas novas variantes podem ser menos susceptíveis à neutralização do que suas linhagens parentais P.1, P. 2 e B.1.1.33.

A epidemia de COVID-19 durante 2021 no Brasil provavelmente será dominada por um conjunto complexo de variantes contendo a mutação E484K e indels diversos no domínio NTD da proteína S. Estas variantes incluem as linhagens P.1, P.2, e N.9, que derivaram das linhagens B.1.1.28 e B.1.1.33 que dominaram a epidemia em 2020. Esses achados destacam a necessidade urgente do incremento da vigilância genômica e de estudos de eficácia das vacinas para as novas variantes emergentes do SARS-CoV-2 no Brasil. Além disso, medidas não farmacológicas visando a mitigação da transmissão comunitária e surgimento de variantes mais transmissíveis com potencial de escape do sistema imune, são extremamente necessárias.

Referências

1. Resende PC, Delatorre, E., Gräf T., Mir D., Motta F.C., Appolinario L., Paixão A. C., Mendonça A. C., Ogrzewalska M., Caetano B., Wallau G. L., Docena C., Santos M. C., Ferreira J., Sousa Junior E., Silva S., Fernandes S., Vianna L. A., Souza L., Ferro J. F, Nardy V., Santos C., Riediger I., Debur M., Croda J., Oliveira, W, Abreu A., Bello G., Siqueira M. M. Evolutionary dynamics and dissemination pattern of the SARS-CoV-2 lineage B.1.1.33 during the early pandemic phase in Brazil. *Frontier in Microbiology*. 2020.
2. Candido DS, Claro IM, de Jesus JG, Souza WM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science*. 2020 Sep 4;369(6508):1255-60.
3. Voloch CM, da Silva Francisco R, Jr., de Almeida LGP, Cardoso CC, Brustolini OJ, Gerber AL, et al. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. *J Virol*. 2021 Mar 1.
4. Naveca F, Nascimento V, Souza V, Corado A, Nascimento F, Silva G, et al. COVID-19 epidemic in the Brazilian state of Amazonas was driven by long-term persistence of endemic SARS-CoV-2 lineages and the recent emergence of the new Variant of Concern P.1. *Research Square*; 2021.
5. Resende PC, Gräf T, Paixão ACD, Appolinario L, Lopes RS, da Fonseca Mendonça AC, et al. A potential SARS-CoV-2 variant of interest (VOI) harboring mutation E484K in the Spike protein was identified within lineage B.1.1.33 circulating in Brazil. *bioRxiv*. 2021 2021-01-01 00:00:00.
6. McCarthy KR, Rennick LJ, Nambulli S, Robinson-McCarthy LR, Bain WG, Haidar G, et al. Recurrent deletions in the SARS-CoV-2 spike glycoprotein drive antibody escape. *Science*. 2021 Mar 12;371(6534):1139-42.
7. Tosta S, Giovanetti M, Brandão Nardy V, de Oliveira da Silva LR, Gómez MKA, Lima JG, et al. Early genomic detection of SARS-CoV-2 P.1 variant in Northeast Brazil. *medRxiv*. 2021 2021-01-01 00:00:00.