



Ministério da Saúde
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde
Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública

NOTA TÉCNICA Nº 126/2020-CGLAB/DAEVS/SVS/MS

1. **ASSUNTO**

1.1. **DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE VARIANTES DE SARS-COV2**

2. **ANÁLISE**

2.1. Nas últimas semanas uma variante do SARS-CoV2 foi detectada no Reino Unido, inicialmente denominada SARS-CoV-2 VUI 202012/01 (do inglês: Variante sob investigação, ano 2020, mês 12, variante 1), com possibilidade de maior transmissão entre humanos. Esta variante é definida por múltiplas mutações na proteína da espícula viral (Spike), a saber: deleção 69-70, deleção 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A e D1118H. Possíveis implicações destas mutações são listadas como maior probabilidade de espalhamento viral desta nova variante no território brasileiro, com potencial impacto nos métodos diagnósticos empregados, na gravidade da doença, na probabilidade de reinfecções e na efetividade e eficiência das vacinas em desenvolvimento.

2.2. Além das mutações detectadas na spike também foram reportadas mutações no gene ORF1ab, ORF8 e N (a tabela abaixo sumariza estas mutações).

2.3. A Tabela 1 fornece detalhes das mutações e deleções não sinônimas específicas da linhagem B.1.1.7. As mutações na spike incluem a posição 501, um dos principais resíduos de contato no domínio de ligação ao receptor (RBD), e os dados experimentais sugerem que a mutação N501Y pode aumentar a afinidade do receptor ACE2 (Starr et al. 2020) e P681H, um dos 4 resíduos compreendendo a inserção que cria um local de clivagem de furina entre S1 e S2 na Spike. O local de clivagem da furina S1 / S2 do SARS-CoV-2 não foi encontrado em coronavírus intimamente relacionados e demonstrou promover a entrada nas células epiteliais respiratórias e a transmissão em modelos animais (Hoffmann, Kleine-Weber e Pöhlmann 2020; Peacock et al. 2020). O N501Y foi associado ao aumento da infecciosidade e virulência em um modelo de camundongo (Gu et al. 2020). Ambos N501Y e P681H foram observados independentemente, mas não em combinação até agora.

2.4. Além da região da Spike, a mutação ORF8 Q27stop trunca a proteína ORF8 ou a torna inativa e, assim, permite que mais mutações a jusante ocorram. No início da pandemia, vários isolados de vírus com deleções levando à perda de expressão de ORF8 foram isolados em todo o mundo, incluindo um grande agrupamento em Cingapura com uma exclusão que levou a uma expressão de Orf7b truncada e de ORF8 ablacionada. A cepa de Cingapura, que teve uma deleção de 382 nt, foi associada a uma infecção clínica mais branda e menos inflamação pós-infecção. Como a ORF8 geralmente tem 121 aminoácidos é provável que o códon de parada na posição 27 observada na linhagem B.1.1.7 resulte em uma perda de função.

2.5. Tabela de mutações detectadas na variante B.1.1.7

Gene	Nucleotídeo	Aminoácido
ORF1ab	C3267T	T1001I

	C5388A	A1708D
	T6954C	I2230T
	11288-11296 deleção	SGF 3675-3677 deleção
Spike	21765-21770 deleção	HV 69-70 deleção
	21991-21993 deleção	Y144 deleção
	A23063T	N501Y
	C23271A	A570D
	C23604A	P681H
	T24506G	S982A
	G24914C	D1118H
Orf8	C27972T	Q27(parada)
	G28048T	R52I
	A28111G	Y73C
N	28280 GAT->CTA	D3L
	C28977T	S235F

2.6. Os kits de diagnóstico molecular podem sofrer com estas mutações no que tange estratégias de amplificação que utilizem estes alvos no processo de amplificação.

2.7. Nesse contexto, informamos que a rede de diagnóstico laboratorial do Brasil, incluindo Lacen, Laboratórios de Referência e laboratórios parceiros utilizam os kits BiOMOL OneStep/COVID-19 IBMP, Allplex 2019-nCoV assay Seegen e kit molecular SARS-CoV2 (E/RP) Bio-manguinhos. O kit BIOMOL OneStep/COVID-19 permite a detecção do RNA do SARS-CoV-2 através de dois alvos: região conservada ORF1ab e região da proteína do nucleocapsídeo N. O kit Allplex 2019-nCoV assay Seegen é um ensaio que foi projetado para detectar os genes RdRp e N específicos para o SARS-CoV-2 e o gene E para todos os Sarbecovírus, incluindo o SARS-CoV-2. No kit molecular SARS-CoV-2 (E/RP) Bio-manguinhos, o gene E é selecionado como região alvo da amplificação.

2.8. Informamos ainda que de acordo com o fluxo já estabelecido para vírus respiratórios, as amostras positivas em RT-qPCR para SARS-CoV-2, de pessoas provenientes do Reino Unido, devem seguir o trâmite normal de envio de amostras para o Laboratório de Referência de sua abrangência, para a realização de sequenciamento genômico, conforme segue:

2.9. AL, BA, ES, MG, PR, RJ, RS, SE e SC - enviar as amostras para Fiocruz/RJ.

2.10. DF, GO, MS, MT, PI, RO, SP e TO - enviar as amostras para o IAL/SP.

2.11. AC, AM, AP, CE, MA, PA, PB, PE, RN, RR - enviar as amostras para o IEC/PA.

3. CONCLUSÃO

3.1. Considerando que os kits de amplificação utilizados no Brasil para o diagnóstico molecular do SARCoV-2 utilizam sondas voltadas para detecção dos genes E, RdRp, N e ORF1ab, **informamos que estas mutações não interferirão nos resultados das amostras de pacientes infectados com a nova linhagem variante.** Como medida de identificação e contenção, o fluxo de amostras relacionadas a pacientes provenientes do Reino Unido também foi estabelecido como supracitado para identificação e caracterização destes potenciais alvos nos Laboratórios de Referência.

Referências

Tyler N. Starr, Allison J. Greaney, Sarah K. Hilton, Daniel Ellis, Katharine H.D. Crawford, Adam S. Dingens, Mary Jane Navarro, John E. Bowen, M. Alejandra Tortorici, Alexandra C. Walls, Neil P. King, David Veelsler,

Jesse D. Bloom, Deep Mutational Scanning of SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Reveals Constraints on Folding and ACE2 Binding, Cell, Volume 182, Issue 5, 2020

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell. 2020

Thomas P. Peacock, Daniel H. Goldhill, Jie Zhou, Laury Baillon, Rebecca Frise, Olivia C. Swann, Ruthiran Kugathasan, Rebecca Penn, Jonathan C. Brown, Raul Y. Sanchez-David, Luca Braga, Maia Kavanagh Williamson, Jack A. Hassard, Ecco Staller, Brian Hanley, Michael Osborn, Mauro Giacca, Andrew D. Davidson, David A. Matthews, Wendy S. Barclay. The furin cleavage site of SARS-CoV-2 spike protein is a key determinant for transmission due to enhanced replication in airway cells. bioRxiv 2020.09.30.318311; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.09.30.318311>

Hongjing Gu, Qi Chen, Guan Yang, Lei He, Hang Fan, Yong-Qiang Deng, Yanxiao Wang, Yue Teng, Zhongpeng Zhao, Yujun Cui, Yuchang Li, Xiao-Feng Li, Jiangfan Li, Na-Na Zhang, Xiaolan Yang, Shaolong Chen, Yan Guo, Guangyu Zhao, Xiliang Wang, De-Yan Luo, Hui Wang, Xiao Yang, Yan Li, Gencheng Han, Yuxian He, Xiaojun Zhou, Shusheng Geng, Xiaoli Sheng, Shibo Jiang, Shihui Sun, Cheng-Feng Qin, Yusen Zhou. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. Science 25 Sep 2020 : 1603-1607



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Regis Melo Filizzola, Coordenador(a)-Geral de Laboratórios de Saúde Pública**, em 31/12/2020, às 09:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Breno Leite Soares, Diretor(a) do Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde**, em 04/01/2021, às 12:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.saude.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0018371792** e o código CRC **9AB7140A**.