

Detecção e diagnóstico de SARS-CoV-2 no contexto da circulação da variante de preocupação Ômicron

30 de novembro de 2021

Em 26 de novembro de 2021, a Organização Mundial da Saúde (OMS) designou a linhagem B.1.1.529 do vírus SARS-CoV-2 como uma variante de preocupação (VOC, do inglês *Variant of concern*) para a saúde pública, atribuindo o nome de acordo com o alfabeto grego, Ômicron.¹

A decisão foi baseada no grande número de mutações por todo o genoma e particularmente no gene da proteína da espícula viral (S), algumas das quais já haviam sido descritas em outras VOCs como responsáveis por um aumento da capacidade de transmissão ou potencial evasão da resposta imune. Dados preliminares baseadas em informações genômicas indicam um risco potencial de reinfeção por esta variante. Além disso, o aumento considerável na detecção de casos suspeitos (com base na falha da detecção do gene S em alguns protocolos de RT-PCR) da variante B.1.1.529 na África do Sul, país que relatou o primeiro caso em uma amostra coletada em 9 de novembro de 2021 e identificada em 24 de novembro, levou a OMS a tomar a decisão de designá-la como uma VOC como medida de precaução.

No contexto da circulação do VOC Ômicron, a equipe de resposta laboratorial da OPAS/OMS recomenda que os Estados-Membros atentem às seguintes considerações:

Testes laboratoriais para SARS-CoV-2

Diagnóstico Molecular (RT-PCR em tempo real)

Até agora, os testes de RT-PCR em tempo real recomendados para detectar SARS-CoV-2 continuam detectando esta e todas as variantes:

- O protocolo de referência para detecção molecular desenvolvido pelo Instituto Charité de Virologia – Universitätsmedizin Berlin, Alemanha, recomendado pela OPAS para a vigilância universal do SARS-CoV-2²
- O protocolo multiplex para influenza e SARS-CoV-2 do Centro Colaborador (CC) da OMS para vigilância, epidemiologia e controle da influenza nos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos da América, que devem ser priorizados para a vigilância sentinela integrada de síndrome gripal (SG) e infecções respiratórias agudas graves (SRAG).³
- Protocolos (*in-house* ou comerciais) que visam a detecção de outros genes (N, RdRP, ORF1, etc.) ainda não foram afetados. Entretanto, aqueles baseados na detecção do gene da proteína S devem ser revistos e podem apresentar falhas de detecção devido ao alto número de mutações.

Portanto, recomenda-se manter os protocolos de rotina já implementados para detecção molecular do SARS-CoV-2.

Diagnóstico por detecção de antígeno (Testes rápidos de antígeno, Ag-RDT)

As mutações da VOC Ômicron estão concentradas principalmente no gene da proteína da espícula viral (S, do inglês *Spike protein*). Considerando que os testes de antígeno recomendados e incluídos na Lista de Uso de Emergência (EUL) da OMS foram desenvolvidos com base na detecção da proteína do nucleocapsídeo (N) que é -em geral- mais conservada, no momento não há evidências para inferir que a sensibilidade e a especificidade dos testes rápidos de antígeno mudaram. Entretanto, estudos adicionais estão em andamento para determinar qualquer impacto potencial no desempenho.

Portanto, com base nas informações disponíveis até agora, recomenda-se manter o uso rotineiro de testes rápidos de antígeno de acordo com os protocolos implementados em cada País. ⁴

Detecção de VOC Ômicron

Vigilância genômica do SARS-CoV-2

Considerando que a determinação e confirmação da linhagem de uma variante circulante de SARS-CoV-2 só é possível através da análise filogenética dos dados de sequenciamento genômico completo do vírus, a Rede Regional de Vigilância Genômica do COVID-19 (COVIGEN) da OPAS/OMS continua trabalhando para fortalecer o sequenciamento oportuno das amostras positivas para SARS-CoV-2. O sequenciamento deve ser aumentado com a submissão de amostras aos Laboratórios de Referência da COVIGEN e se deve manter ou aumentar as capacidades naqueles laboratórios que não possuem plataformas de sequenciamento já implementadas. ⁵

Informações adicionais da Rede Regional de Vigilância Genômica do COVID-19 (COVIGEN) podem ser obtidas no site: <https://www.paho.org/pt/node/4951/rede-regional-vigilancia-genomica-covid-19>

A OPAS/OMS incentiva os laboratórios a sequenciar oportunamente amostras positivas de SARS-CoV-2 selecionadas de acordo com os critérios estabelecidos⁵ e compartilhar as informações genéticas através do GISAID.

Crítérios gerais para a seleção de amostras de SARS-CoV-2 para vigilância genômica⁵:

Representatividade e critérios epidemiológicos:

- Diferentes faixas etárias
- Diferentes localizações geográficas dentro do país
- Diferentes períodos de tempo
- Graus de gravidade: casos leves, graves e fatais
- Casos em áreas com aumento significativo da incidência em poucas semanas (não explicados pelo relaxamento das medidas de saúde pública)
- Crianças em áreas com maior incidência de casos pediátricos
- Conglomerados de casos graves em pessoas < 60 anos e sem comorbidades
- Casos em que se suspeita de reinfeção
- Casos em pessoas com esquema completo de vacinação
- Casos com histórico de viagem a áreas onde diferentes VOCs circulam (incluindo Ômicron) nos 14 dias anteriores ao início dos sintomas.

Características virológicas e critérios laboratoriais:

- Amostras com valores de Ct ≤ 25
- Amostras transportadas através de uma cadeia fria ininterrupta e armazenadas a temperatura ultrabaixa (ou pelo menos -20°C)
- Amostras que não passaram por vários ciclos de congelamento-descongelamento.

Paralelamente, a OPAS/OMS já está revisando alternativas para complementar a vigilância genômica de SARS-CoV-2, implementando ou adaptando protocolos RT-PCR em tempo real que permitam a triagem inicial e a detecção precoce da variante Ômicron. Esses protocolos permitirão a identificação de mutações pontuais na Ômicron e a priorização das amostras correspondentes para sequenciamento de genoma completo (ver algoritmos em anexo). Os resultados desses protocolos não são confirmatórios e devem ser sempre interpretados no contexto da circulação de outras linhagens ou variantes que possam apresentar a mesma mutação.

Principais ações de um Estado-Membro quando se suspeite ou identifique a variante Ômicron

- Considerar a validação dos resultados da identificação da variante Ômicron pelo Laboratório Nacional de Saúde Pública referência do Ministério da Saúde para a vigilância COVID-19 antes da notificação através dos canais oficiais do Regulamento Sanitário Internacional (RSI).
- Informar imediatamente à OPAS/OMS os casos/conglomerados iniciais associados à infecção pela variante Ômicron através do mecanismo de RSI.
- Enviar sequências genômicas completas ou parciais e metadados associados a um banco de dados disponível publicamente, como o GISAID.

Algoritmos de Diagnóstico Laboratorial

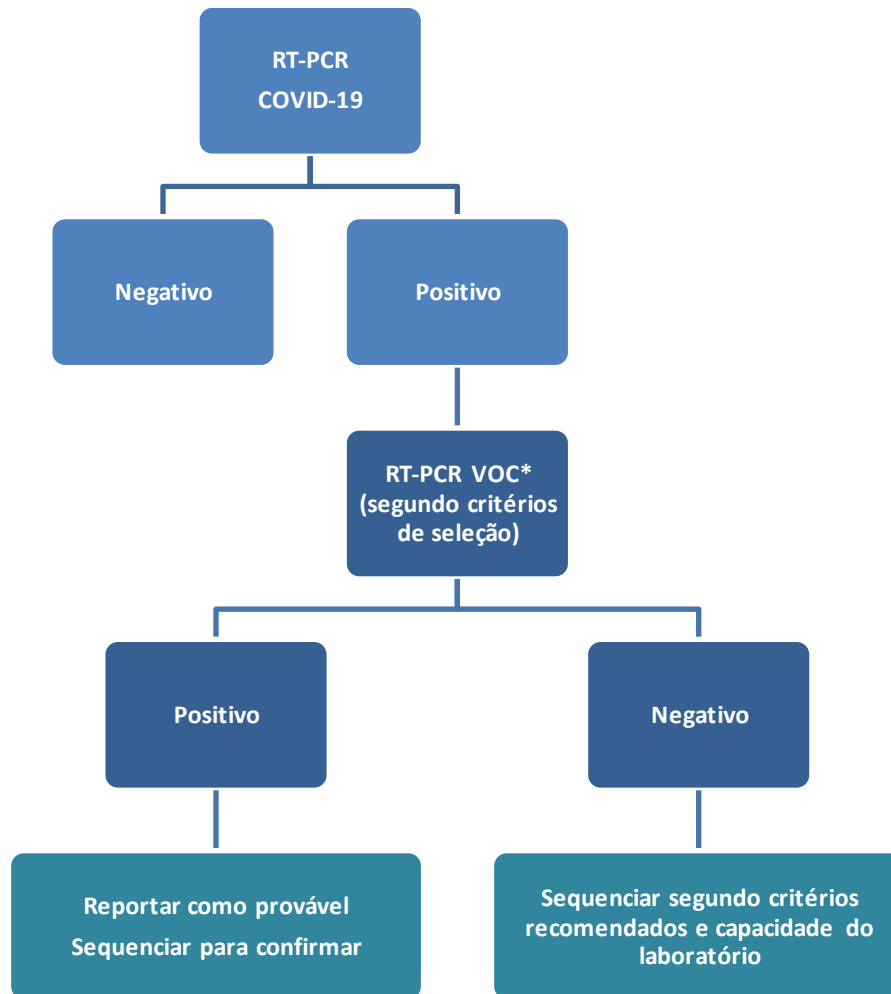
Considerando que os protocolos de diagnóstico e as recomendações de sequenciamento não foram alterados, os algoritmos laboratoriais recomendados para a detecção e diagnóstico da infecção pelo SARS-CoV-2^{2,4} e para a vigilância sentinela integrada do SG/SRAG³ devem permanecer inalterados. Os algoritmos propostos para o uso RT-PCR para triagem de Ômicron e outras variantes encontram-se no anexo.

Referências

1. Organização Mundial da Saúde. Classificação da variante Ômicron (B.1.1.529) de SARS-CoV-2 como uma variante de preocupação. 26 de novembro de 2021. Disponível em: [https://www.who.int/news/item/26-11-2021-classification-of-omicron-\(b.1.1.529\)-sars-cov-2-variant-of-concern](https://www.who.int/news/item/26-11-2021-classification-of-omicron-(b.1.1.529)-sars-cov-2-variant-of-concern)
2. Organização Pan-Americana da Saúde. Diretrizes laboratoriais para detecção e diagnóstico de infecção pelo vírus da COVID-19. 8 de julho de 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/documents/laboratory-guidelines-detection-and-diagnosis-covid-19-virus-infection>
3. Organização Pan-Americana da Saúde. Orientações para implementação do ensaio de RT-PCR multiplex para influenza e SARS-CoV-2 vigilância integrada de influenza e COVID-19. 19 de abril de 2021. Disponível em: Disponível em: <https://www.paho.org/pt/documentos/orientacoes-para-implementacao-do-do-ensaio-rt-pcr-multiplex-para-influenza-e-sars-cov-2>
4. Organização Pan-Americana da Saúde. Implementação do teste rápido de detecção de antígeno para COVID-19 - estudo piloto. 27 de outubro de 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/implementation-covid-19-rapid-antigen-detection-test-pilot>
5. Organização Pan-Americana da Saúde. Orientação para seleção de amostras de SARS-CoV-2 para caracterização e vigilância genômica. 9 de fevereiro de 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/documentos/orientacao-para-selecao-amostras-sars-cov-2-para-caracterizacao-e-vigilancia-genomica>

Anexo: Algoritmos para triagem molecular

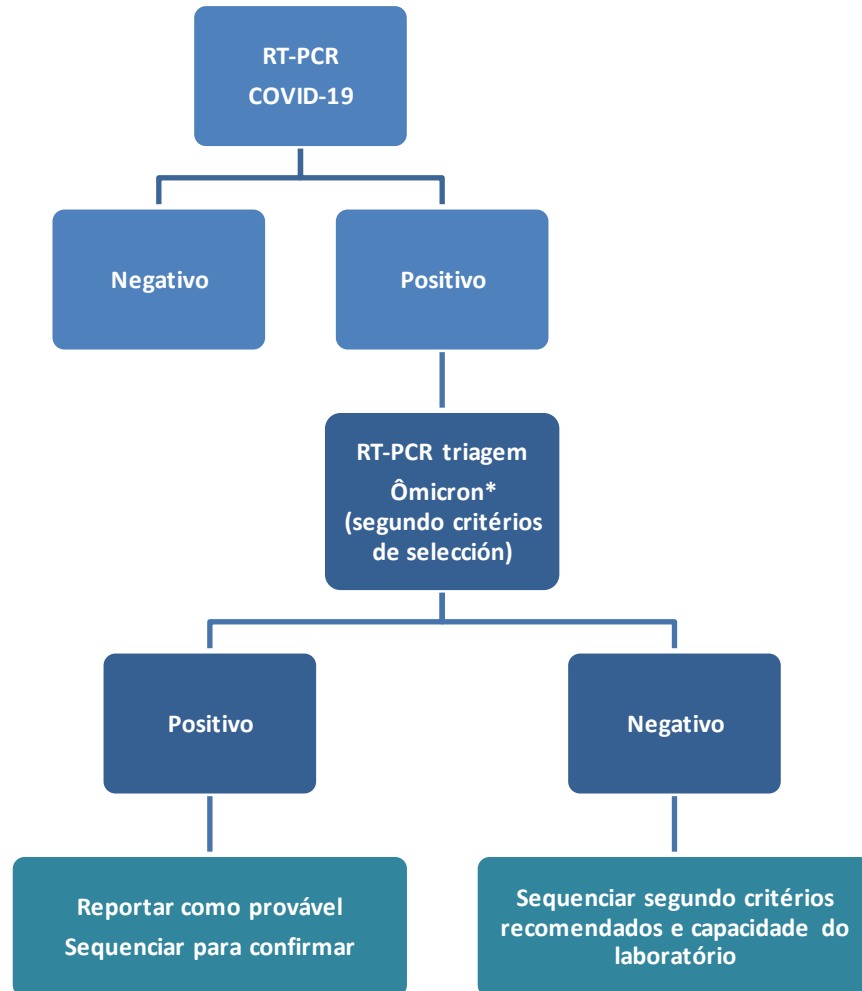
Algoritmo para triagem de variantes de preocupação (incluindo Ômicron) por RT-PCR em tempo real, utilizando protocolo previamente recomendado pela OPAS para VOC



*Protocolo Naveca et al.: detecta uma deleção de 3 aminoácidos (S106/ G107 / F108) na proteína NSP6. Esta deleção está presente nas VOCs Alfa, Beta e Gamma, bem como na variante de interesse (VOI) Lambda. No caso de Ômicron, uma exclusão semelhante de 3 aminoácidos (L105/S106/G107) gera uma sequência que difere apenas em um nucleotídeo da sequência detectada pela sonda da RT-PCR nas outras variantes anteriormente mencionadas. Portanto, a sequência da sonda do protocolo original será ajustada para garantir uma detecção mais eficiente. Os resultados devem ser interpretados à luz das variantes que circulam no país que poderiam ser detectadas por este RT-PCR. Por exemplo, no contexto ou predominância da variante Delta e ausência/baixa circulação de Alpha, Beta, Gama e Lambda, a presença da deleção sugere a detecção de Ômicron.

Referência: Naveca et al., COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P.1 emergence, *Nat Med* 27, 1230–1238 (2021), <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01378-7>

Algoritmo genérico para triagem de variantes de preocupação (incluindo Ômicron) por RT-PCR em tempo real, usando outros protocolos



*Nota: Podem existir diferentes protocolos de triagem para Ômicron e outras VOCs. Em todos os casos, a mutação detectada e sua eventual presença em outras variantes ou linhagens devem ser consideradas (ver Tabela na próxima página).

Mutações características na proteína S de variantes de preocupação e interesse

VOC/VOI	Exclusão 69/70	Posição 417	Posição 484	Posição 501	Posição 681
Sequência de referência GISAID	<i>Não</i>	<i>K</i>	<i>E</i>	<i>N</i>	<i>P</i>
Alfa	Sim	K	E	Y	H
Beta	Não	N	K	Y	P
Gama	Não	T	K	Y	P
Delta	Não	K	E	N	R
Lambda	Não	K	E	N	P
Mu	Não	K	K	Y	H
Ômicron	Sim	N*	A	Y	H

*Nota: Mutação K417N presente em aproximadamente 50% das sequências de Ômicron disponíveis até o momento.

Esta tabela não inclui todas as mutações presentes na proteína S. As mutações indicadas são as mais comuns em cada variante. No entanto, algumas sequências da mesma variante podem ter acumulado mutações adicionais (por exemplo, Alfa com 484K ou Delta com 417N).