

Sequenciamento genômico do SARS-CoV-2 para objetivos de saúde pública

Orientação provisória

8 de janeiro de 2021



Mensagens principais

- A vigilância global das sequências genéticas do SARS-CoV-2 e dos metadados correlatos contribui para a resposta ao surto de COVID-19. Essa contribuição inclui o rastreamento da disseminação do SARS-CoV-2 geograficamente ao longo do tempo e a garantia de que as mutações que possam influenciar a patogenicidade, a transmissão ou as contramedidas (como vacinas, terapêutica e diagnósticos) sejam detectadas e avaliadas em tempo hábil.
- Embora o custo e a complexidade do sequenciamento genético tenham caído significativamente ao longo do tempo, os programas de sequenciamento efetivos ainda exigem um investimento substancial em termos de pessoal, equipamento, reagentes e infraestrutura bioinformática. Além disso, é necessária uma colaboração efetiva para garantir que os dados gerados sejam de boa qualidade e que sejam usados de maneira significativa.
- Os países são incentivados a depositar rapidamente as sequências do SARS-CoV-2 em um banco de dados público para compará-las com a comunidade científica para fins de saúde pública. Os investimentos em uma rede de sequenciamento global em camadas para SARS-CoV-2 contribuirão para o desenvolvimento de programas de sequenciamento global resilientes e de alta qualidade para a detecção e o manejo de outros patógenos causadores de surto no futuro.

Retrospectiva

Na última década, os dados de sequência genética (GSD) de patógenos passaram a desempenhar papel fundamental na detecção e no manejo de surtos de doenças infecciosas, apoiando o desenvolvimento de diagnósticos, medicamentos e vacinas e orientando a resposta a surtos. (1-11) Com o surgimento do novo coronavírus, posteriormente denominado coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2), a importância dos GSD foi ainda mais enfatizada. Mais de 280 mil sequências completas de genoma foram compartilhadas por meio de bancos de dados acessíveis ao público no período de um ano desde a identificação inicial do SARS-CoV-2. (12) A análise dos dados quase em tempo real impactou diretamente a resposta da saúde pública. (12-16) Os objetivos de saúde pública do sequenciamento genômico do SARS-CoV-2 estão relacionados na Tabela 1.

O crescente entendimento de como as informações de sequência podem contribuir para melhorar a saúde pública está impulsionando investimentos globais em instalações e programas de sequenciamento. O custo e a complexidade decrescentes da geração de GSD oferecem oportunidades para expandir a capacidade de sequenciamento; no entanto, os desafios para a implementação generalizada permanecem, e a capacidade e os dados de sequenciamento não estão uniformemente distribuídos ao redor do mundo, com uma super-representação dos GSD do SARS-CoV-2 provenientes de países de alta renda.

Tabela 1. Objetivos de saúde pública do sequenciamento genômico do SARS-CoV-2

Atividades que exigem esforço limitado e que, uma vez realizadas, podem dispensar o sequenciamento ou necessitar de sequenciamento ocasional para acompanhamento	Atividades que exigem ações contínuas de sequenciamento por um longo período de tempo	
<ul style="list-style-type: none">• Identificar o SARS-CoV-2 como o agente causador da doença.• Desenvolver diagnósticos para SARS-CoV-2.• Apoiar o desenvolvimento de terapias e vacinas.• Investigar a data de introdução em humanos e investigar a origem do SARS-CoV-2 (em andamento).• Reinfecção:<ul style="list-style-type: none">– avaliar e melhorar a compreensão desse fenômeno;– em nível individual, diferenciar a infecção prolongada da reinfecção.	Evolução do SARS-CoV-2 e seu impacto em: <ul style="list-style-type: none">• Alterações no comportamento viral (alteração fenotípica), por exemplo, transmissibilidade ou patogenicidade.• Imunidade (proveniente de vacinas ou de infecção natural).• Diagnóstico (ou seja, molecular, sorologia, ensaios de antígeno).• Intervenções terapêuticas (por exemplo, anticorpos monoclonais).	Monitorar o movimento e a atividade viral: <ul style="list-style-type: none">• Investigar a disseminação geográfica e reintroduções nas populações.• Investigar surtos em locais e populações específicas (por exemplo, em hospitais).• Rastrear a reintrodução zoonótica em ambas as direções, ultrapassando a barreira entre as espécies.• Monitorar o meio ambiente e as águas residuais.• Apoiar a vigilância clássica quantificando o período de transmissão e avaliando os impulsionadores e estimando o nível de transmissão na população.

Objetivo deste documento

Este documento fornece orientação aos formuladores de políticas em nível nacional e às partes interessadas sobre como maximizar o benefício para a saúde pública das atividades de sequenciamento genômico do SARS-CoV-2 no curto e longo prazo, enquanto a pandemia continua a se desenvolver. São abordadas considerações práticas para a implementação de um programa de sequenciamento genômico viral e uma visão geral dos objetivos de saúde pública do sequenciamento genômico. Esta orientação concentra-se no SARS-CoV-2, mas é aplicável a outros patógenos de interesse para a saúde pública. Recomenda-se que os países que desejam desenvolver a capacidade de sequenciamento do SARS-CoV-2 façam isso como parte de um plano mais amplo para desenvolvimento de capacidade para detectar e monitorar outros patógenos de interesse de saúde pública.

Orientação adicional da OMS

A OMS desenvolveu o guia de [Implementação do sequenciamento genômico do SARS-CoV-2: guia de implementação para máximo impacto na saúde pública](#) em colaboração com especialistas em sequenciamento do mundo inteiro. Este guia fornece uma retrospectiva mais completa do sequenciamento do SARS-CoV-2 e se destina àqueles que estão ativamente envolvidos na implementação de programas de sequenciamento. (17) Fornece uma análise aprofundada dos vários usos do sequenciamento e conselhos técnicos sobre o sequenciamento de patógenos no contexto do SARS-CoV-2. Além de ler esses e outros documentos publicados, os laboratórios com experiência limitada em sequenciamento devem buscar ativamente oportunidades para colaborar com laboratórios experientes e/ou ingressar ou formar redes de laboratórios com experiência em sequenciamento.

1. Introdução ao SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é classificado no gênero *Betacoronavirus* (subgênero Sarbecovirus) da família *Coronaviridae*. (18) É um vírus de ácido ribonucléico (RNA) de fita simples, de sentido positivo, com um genoma de aproximadamente 30 kb. (19) O sequenciamento genético permite a leitura dos genomas virais. Como cada patógeno possui uma sequência genômica única, esse método pode ser usado para identificar novos patógenos (como no caso do SARS-CoV-2). (20) O genoma do SARS-CoV-2 codifica proteínas não estruturais, quatro proteínas estruturais (espícula [S], envelope [E], membrana [M], nucleocapsídeo [N]) e várias proteínas acessórias presumíveis. (21-23) A entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira exige a ligação da proteína S viral ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE-2) da célula hospedeira. (24-27) A proteína da espícula do SARS-CoV-2, especialmente o domínio de ligação ao receptor (RBD), é um alvo crítico para a imunidade natural e induzida por vacina. (28-32) Portanto, a diversificação do gene que codifica a proteína da espícula pode potencialmente impactar a eficácia da vacina, a imunidade natural e as terapias com anticorpos (monoclonais). (33)

Quando os vírus se replicam, especialmente os vírus de RNA, como o SARS-CoV-2, ocorrem alterações (mutações) no genoma. Se uma mutação adquirida não tiver uma desvantagem evolutiva, ela pode se tornar fixa nas populações de SARS-CoV-2. A taxa de alteração evolutiva no SARS-CoV-2 é atualmente estimada em 1×10^{-3} substituições por local por ano no nível de nucleotídeo. (34) Isso se traduz em aproximadamente uma substituição no genoma a cada duas semanas. (35) Essa taxa de evolução relativamente baixa limita a resolução no tempo de eventos de transmissão individuais. (35) O estudo da evolução do SARS-CoV-2 e a rápida identificação de substituições, inserções ou deleções que podem impactar as propriedades virais (alteração fenotípica) são ferramentas importantes no monitoramento de uma epidemia. Entre os resultados mais óbvios desse trabalho está a detecção de mutações que estejam associadas a alterações na transmissibilidade e/ou patogenicidade do vírus, ou que possam reduzir a utilidade de contramedidas médicas (diagnósticos, vacinas e terapêuticas). O acompanhamento das mutações do vírus ao longo do tempo e do espaço também pode ajudar no rastreamento da propagação do patógeno e apoiar uma compreensão aprimorada das possíveis rotas e dinâmicas da transmissão. A reconstrução da história evolutiva dos patógenos pode ser obtida por meio de análise filogenética. As análises filogenéticas e filodinâmicas (ou seja, como as filogenias do vírus são moldadas por processos epidemiológicos e evolutivos) podem fornecer informações abrangentes para apoiar a resposta ao surto.

2. Estabelecimento de uma abordagem ideal de sequenciamento do SARS-CoV-2 no contexto local

2.1 Priorização de objetivos e abordagem de sequenciamento específicos do contexto

Embora seu custo tenha caído significativamente nas últimas décadas, o sequenciamento de genes ainda exige um investimento substancial em recursos (financeiros, infraestrutura e humanos). Antes de iniciar um projeto de sequenciamento, a primeira etapa crítica é determinar se o sequenciamento é realmente valioso para se alcançar um objetivo específico ou se existem outras abordagens mais efetivas em termos de tempo ou custo-benefício disponíveis. Para essa decisão pode ser necessário ponderar se o sequencia-

mento do vírus por si só é suficiente para se atingir o objetivo definido ou se ele deve ser incluído como componente menor de uma abordagem multidisciplinar. As atividades com enfoque epidemiológico que integrem analistas de dados genômicos diretamente às equipes de investigação e resposta de saúde pública têm probabilidade de ter um impacto imediato maior do que aquelas nas quais a análise genômica do vírus existe como atividade separada ou secundária.

Quando os recursos para apoiar o sequenciamento são limitados, pode ser necessário limitar os objetivos de um programa de sequenciamento a atividades com alto potencial clínico e/ou de saúde pública, que possam ser continuadas. Esse programa pode priorizar o sequenciamento do SARS-CoV-2: i) de indivíduos vacinados contra o SARS-CoV-2, mas que posteriormente se infectaram com o SARS-CoV-2, apesar de exibirem uma resposta imune apropriada à vacina; ii) em ambientes de risco, como onde há estreita interação humano-animal com grande número de animais que são suscetíveis à infecção por SARS-CoV-2, ou onde há pacientes imunocomprometidos com excreção prolongada, especialmente quando recebem terapia com anticorpos contra SARS-CoV-2; iii) quando houver aumento ou alteração inesperada na transmissibilidade e/ou virulência do SARS-CoV-2; iv) quando houver suspeita de alteração no desempenho de métodos ou terapias diagnósticas (anticorpos, antígenos, ensaios moleculares); v) durante as investigações de clusters quando o sequenciamento pode apoiar a compreensão dos eventos de transmissão e/ou avaliar a eficácia dos procedimentos de controle de infecção.

A Figura 1 fornece uma visão geral dos pilares básicos necessários para o sequenciamento. Se não houver capacidade disponível ou se ela for limitada em todos os três pilares, provavelmente será necessário desenvolver parcerias com outros grupos para se atingir as metas de sequenciamento. Por outro lado, se houver capacidade e recursos adequados para um ou mais pilares, o laboratório pode cogitar apoiar outros parceiros com programas de sequenciamento incipientes. A demanda variável de capacidade ocorrerá em diferentes fases de um surto e pode exigir que os laboratórios mudem de uma estratégia para outra.

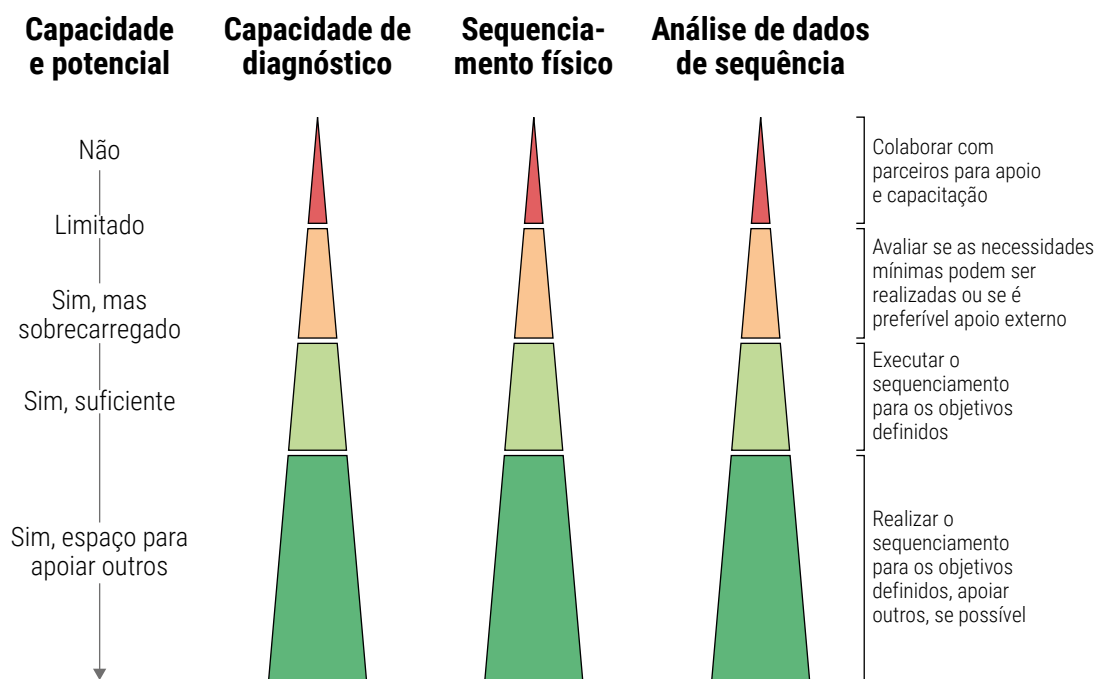


Figura 1. Estabelecer capacidade nos pilares necessários para o sequenciamento, a fim de selecionar a melhor abordagem para o estabelecimento de um programa de sequenciamento

2.2 Investir na capacidade de sequenciamento global sustentável para SARS-CoV-2 e outros patógenos (emergentes/reemergentes) de interesse para a saúde pública

As redes hierárquicas de laboratórios da OMS têm funcionalidade comprovada e permitem a colaboração global, com adaptação regional das redes a necessidades nacionais e regionais específicas. (36-39) O desenvolvimento de uma rede de sequenciamento global forte e resiliente pode maximizar o impacto do sequenciamento do SARS-CoV-2 e de outros patógenos emergentes/reemergentes na saúde pública. Atualmente, os laboratórios de referência da OMS que fornecem testes de confirmação para COVID-19 estão apoiando algumas dessas necessidades de sequenciamento e análise. (40) Várias regiões têm capacidades de sequenciamento, ou estas estão em processo de desenvolvimento, as quais poderão se juntar à rede global de laboratórios/grupos de sequenciamento. Para determinar a contribuição que os laboratórios da rede podem fazer, pode ser realizada uma estimativa global da capacidade de cada pilar listado

na Figura 1. Diversas redes laboratoriais específicas para patógenos (como aquelas que trabalham com resistência antimicrobiana, MERS-CoV, *influenza*, sarampo, rubéola, poliovírus e tuberculose) investiram na capacidade de sequenciamento como parte de suas atividades de vigilância. (8, 9, 41-43) Como os custos de sequenciamento ainda são substanciais e muitas partes do fluxo de trabalho de sequenciamento podem ser usadas para vários patógenos ou objetivos de sequenciamento, incentiva-se a colaboração nacional para garantir o uso ideal da capacidade existente. Os programas de capacitação devem se concentrar em uma abordagem gradual para desenvolvimento de competências. As prioridades de desenvolvimento de capacidade devem ser dependentes do contexto. Para alguns países, faria sentido desenvolver a capacidade de laboratório úmido, ao passo que, em outros lugares, seria de maior impacto terceirizar o sequenciamento real e concentrar-se no desenvolvimento da bioinformática, no manejo e na interpretação de dados. Para que haja colaboração, compartilhamento de dados, protocolos padronizados para sequenciamento efetivos, reuniões e treinamento conjuntos, auditorias, testes de proficiência (sequenciamento e análise) e desenvolvimento de padrões de referência para a avaliação de diferentes procedimentos, apoiarão o desenvolvimento de programas de sequenciamento de alta qualidade para o SARS-CoV-2 e para detecção e resposta a futuros patógenos emergentes. Quando as amostras são compartilhadas em uma rede, também devem estar disponíveis mecanismos apropriados para o envio de amostras de acordo com os requisitos adequados.

3. Considerações práticas para a implementação de um programa de sequenciamento genômico viral

Aqui, fornecemos uma visão geral dos requisitos técnicos para o estabelecimento de um programa de sequenciamento. Para obter informações detalhadas sobre o sequenciamento do SARS-CoV-2 consulte o guia completo de implementação do sequenciamento do SARS-CoV-2. (17)

3.1 Considerações práticas ao desenvolver um programa de sequenciamento SARS-CoV-2

Os objetivos do sequenciamento determinarão o desenho do fluxo de trabalho de sequenciamento (Tabela 1). No Anexo I podem ser encontradas questões-chave relevantes para auxiliar esse processo. O Anexo II contém uma lista de verificação com considerações para o planejamento de um programa de sequenciamento do SARS-CoV-2. A Figura 2 representa o fluxo de trabalho para o sequenciamento do genoma completo do SARS-CoV-2. Todos os funcionários envolvidos em um programa de sequenciamento devem receber treinamento e orientação apropriados para cumprir a tarefa exigida. As principais partes interessadas devem ser identificadas, consultadas e envolvidas em um estágio inicial. As partes interessadas a serem envolvidas no desenvolvimento de programas de sequenciamento incluem órgãos de saúde pública, laboratórios de diagnóstico, instalações de sequenciamento, grupos analíticos e, dependendo do local, equipes de prevenção e controle de infecção ou serviços de saúde ocupacional, grupos de defesa de pacientes e outras instituições envolvidas em atividades de pesquisa de interface humano-animal, quando apropriado. Ao longo do projeto, devem ser desenvolvidos e mantidos canais e vias de comunicação que estejam alinhados com os objetivos do programa, a fim de garantir que os dados de sequenciamento sejam usados da melhor forma. Avaliações regulares do progresso do projeto e avaliação final são fundamentais para garantir que lições sejam aprendidas e que melhorias sejam feitas, quando necessário. Para se alcançar sucesso nos objetivos de um programa de sequenciamento focado em patógenos emergentes exige-se o envolvimento de especialistas em diferentes campos: (i) sequenciamento em laboratório úmido e manuseio seguro de amostras virais; (ii) geração de genomas precisos a partir de dados brutos; (iii) análise de genomas para gerar resultados significativos que sejam úteis para a resposta ao surto; e (iv) patógenos. A maioria dos especialistas terá habilidade em apenas uma ou duas dessas áreas. Para (ii) e (iii), são necessários recursos computacionais poderosos para se alcançar resultados rápidos. A colaboração entre especialistas com diferentes conjuntos de habilidades e combinação de recursos é, portanto, muitas vezes a chave para gerar resultados oportunos, precisos e efetivos que possam realmente impactar a saúde pública.

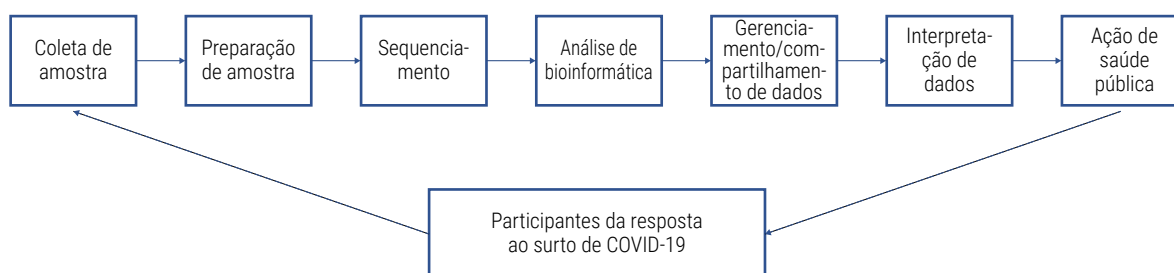


Figura 2. Fluxo de trabalho para o sequenciamento do genoma completo do SARS-CoV-2. Observe que a implementação bem-sucedida desse fluxo de trabalho envolverá a comunicação bilateral entre especialistas envolvidos em diferentes estágios; por exemplo, aqueles que conduzem a interpretação dos dados, idealmente, discutiriam diretamente com os envolvidos na seleção e preparação da amostra quais das amostras serão escolhidas do sequenciamento.

3.2 Considerações éticas

É importante analisar as implicações éticas ao desenhar um programa de sequenciamento. Devem ser identificados os possíveis riscos de dano social aos participantes da pesquisa e definidas as estratégias de mitigação. Quaisquer investigações propostas devem ser avaliadas e aprovadas por um comitê de revisão ética, que leva em consideração o valor social, a validade científica, a seleção de participantes, a relação risco-benefício, o consentimento informado e o respeito contínuo pelos participantes. (44-46) Nos lugares em que os pesquisadores não tiverem experiência na identificação de possíveis questões éticas que envolvem o sequenciamento de patógenos de surto, como o SARS-CoV-2, são fortemente encorajados a colaboração internacional e o envolvimento desses especialistas. (44) A colaboração entre pesquisadores de todo o mundo deve garantir parcerias de pesquisa colaborativa equitativas e mutuamente benéficas. Os pesquisadores locais devem ser encorajados a assumir papéis de liderança e ativos em todo o processo de pesquisa, pois são mais propensos a compreender seus sistemas de saúde e pesquisa e a ser capazes de traduzir os resultados em políticas. (44, 45) As considerações éticas para a sequência genômica e o compartilhamento de metadados são discutidas na seção 3.7.

3.3 Considerações para estratégia de amostragem e preparação de amostra

Uma vez que as metas forem identificadas, uma estratégia de amostragem apropriada precisa ser desenvolvida com as partes interessadas relevantes. Detalhes sobre a amostragem podem ser encontrados no guia de implementação de sequenciamento SARS-CoV-2. (17) Idealmente, as razões para a escolha de espécimes para sequenciamento devem ser registradas nos metadados, uma vez que a inclusão de subconjuntos não aleatórios de amostras pode afetar a confiabilidade de certas análises genéticas, como análises filogenéticas e filodinâmicas. Conselhos práticos sobre como coletar amostras clínicas são abordados nas diretrizes de diagnóstico do SARS-CoV-2. (47) Antes do sequenciamento, é recomendado enriquecer a amostra de material genético do SARS-CoV-2 em relação a outros materiais genéticos. Nessa etapa, tome cuidado para não contaminar a amostra. (17, 48, 49) As abordagens baseadas em PCR são uma maneira barata, rápida e conveniente de aumentar a quantidade de material genético viral disponível em uma amostra antes do sequenciamento, por exemplo, a abordagem desenhada pela Rede ARTIC. (51-53) Para obter mais detalhes técnicos e saber como selecionar o método ideal para diferentes situações, consulte o guia de implementação de sequenciamento do SARS-CoV-2. (17) Após a preparação inicial da amostra para enriquecimento do material genético do SARS-CoV-2, de modo geral as bibliotecas podem ser preparadas usando protocolos de sequenciamento padrão que sejam apropriados para qualquer vírus.

3.4 Considerações laboratoriais

As estratégias de sequenciamento do SARS-CoV-2 incluem abordagens direcionadas que dependem do conhecimento do genoma e abordagens metagenômicas que não exigem conhecimento prévio da sequência genômica. (54, 55) O Anexo III resume as principais vantagens e limitações de cada tecnologia de sequenciamento comumente usada. Antes de investir na capacidade de sequenciamento, deve-se levar em conta os requisitos das várias tecnologias em termos de recursos humanos, competências da equipe, infraestrutura laboratorial, tempo de execução, custos, facilidade de uso, processamento de dados subsequente, taxa de transferência (taxa de produção de dados) e precisão do sequenciamento. O número de amostras que precisam ser analisadas dependerá do objetivo do sequenciamento. Ao calcular os custos, leve em conta não apenas a aquisição de equipamentos de sequenciamento, mas também os custos recorrentes de reagentes, manutenção e contratos de serviço. Esta orientação não cobre custos, mas uma ampla visão geral recente pode ser encontrada em (8). Deve haver infraestrutura básica para apoiar um sequenciamento confiável, incluindo conexão confiável à internet e fornecimento de eletricidade, ambiente apropriado (por exemplo, ausência de vibração e poeira, necessidade de registro e regulação de temperatura e umidade para algumas plataformas) e registro do armazenamento de amostras. Devem ser implementadas medidas de bioproteção e biossegurança adequadas. A avaliação dos custos e requisitos básicos de infraestrutura pode ajudar na decisão de realizar o sequenciamento real internamente ou de modo terceirizado. A tecnologia muda rapidamente; consequentemente, certas técnicas se tornarão obsoletas ou os fabricantes mudarão para máquinas e/ou reagentes diferentes. Antes de fazer grandes investimentos, é recomendável determinar por quanto tempo o fabricante se comprometerá a fornecer reagentes e apoiar a manutenção e a solução de problemas das plataformas de interesse selecionadas. Ao planejar um programa, a disponibilidade de reagentes e equipamentos adicionais para apoiar o trabalho de sequenciamento também deve ser levada em consideração [por exemplo, métodos de extração (seja automatizado ou manual), instrumentos para quantificação do material genético, instrumentos de amplificação e incubação, purificação de amostra e armazenamento de amostras e reagentes]. Os laboratórios que realizam o sequenciamento genômico devem ter capacidade de realizar um teste PCR para SARS-CoV-2 de alta qualidade confirmada por garantia de qualidade interna e externa. Além disso, para cada etapa do processo, devem ser estabelecidos e monitorados indicadores de qualidade.

3.5 Bioinformática e considerações computacionais

Os requisitos de hardware diferem dependendo da abordagem adotada (para detalhes, consulte o guia de implementação (17)). O volume de dados brutos produzidos depende do método de sequenciamento (ver anexo III) e do número de amostras sequenciadas. (56) O poder computacional necessário para a análise de dados também difere de acordo com o objetivo e o método de sequenciamento. Por exemplo, a filogenética e o alinhamento do genoma podem exigir poder computacional de alto desempenho, especialmente quando os conjuntos de dados são grandes. Os custos da arquitetura computacional necessária para armazenar e manipular esses dados devem ser levados em consideração ao se desenvolver uma pipeline de sequenciamento. A pipeline de bioinformática dependerá das etapas do laboratório de pré-sequenciamento, da plataforma de sequenciamento e dos reagentes usados. Para uma descrição detalhada das pipelines de bioinformática, consulte o guia de implementação. (17)

3.6 Considerações sobre denominação e nomenclatura de vírus

Ainda não foi estabelecida uma nomenclatura consistente para o SARS-CoV-2. Na ausência de uma nomenclatura consistente acordada, três principais estratégias de nomenclatura são geralmente utilizadas. Podem-se definir as linhagens ou clados com base em vírus que compartilhem um ancestral comum determinado filogeneticamente. Tanto o GISAID quanto o Nextstrain têm como objetivo fornecer uma ampla categorização da diversidade em circulação global, nomeando diferentes clados filogenéticos. Rambaut *et al.* propôs uma nomenclatura dinâmica para linhagens de SARS-CoV-2 que se concentra nas linhagens de vírus de circulação ativa e naquelas que se espalham para novos locais. (57) Há um software disponível para atribuir automaticamente novas sequências a uma linhagem e/ou clado. (58-60) Com o aumento da diversidade nos genomas de SARS-CoV-2, a demanda por uma nomenclatura uniforme está crescendo. (57, 61, 62) Embora não exista alguma nomenclatura consistente, a melhor abordagem seria listar determinadas linhagens e/ou clados usando todos os três sistemas comumente usados ou, no mínimo, declarar explicitamente qual nomenclatura está sendo usada.

3.7 Sequência genômica e compartilhamento de metadados

O rápido compartilhamento dos GSD de patógenos, juntamente com os metadados epidemiológicos e clínicos anônimos relevantes, maximizará o impacto do sequenciamento genômico na resposta de saúde pública. (63-65) O amplo compartilhamento de sequências de SARS-CoV-2, bem como protocolos de diagnóstico, protocolos de sequenciamento e amostras, tem sido globalmente benéfico para se atingir a capacidade de diagnóstico molecular em todo o mundo. (66-68) A comunidade científica/médica deve continuar a desenvolver a colaboração global e o compartilhamento oportuno de dados durante o surto de SARS-CoV-2 e futuros surtos emergentes. Existem duas opções distintas disponíveis para compartilhamento de dados de sequência genômica do SARS-CoV-2: “domínio público” e “acesso público”. (69) Os bancos de dados de domínio público fornecem acesso aos dados sem exigir a identidade de quem acessa e usa os dados, por exemplo, o INSDC, operado pela DDBJ, EMBL-EBI e NCBI. Em bancos de dados de acesso público, como o GISAID, os usuários devem se identificar para garantir o uso transparente dos dados, permitir uma supervisão efetiva, proteger os direitos dos contribuidores de dados, fazer o possível para colaborar com os provedores de dados e reconhecer sua contribuição nos resultados publicados. Os exemplos mencionados são gratuitos e acessíveis ao público. Quando forem desenvolvidos projetos de sequenciamento de patógenos, é imperativo determinar qual dessas escolhas é a mais apropriada, se houver, e se são necessários outros métodos para acessar e compartilhar GSD. (44) Um dos fatores críticos para garantir o compartilhamento contínuo de dados genéticos é dar o devido reconhecimento àqueles que coletam amostras clínicas e geram sequências genômicas de vírus. As fontes de dados sempre devem ser reconhecidas quando forem utilizados dados disponíveis publicamente, e as publicações e os artigos preprint relacionados devem ser citados quando disponíveis.

Os dados de sequência, incluindo sequências de consenso, sequências de consenso parciais e dados de sequência bruta, podem ser compartilhados de forma valiosa em vários formatos. A qualidade dos dados da sequência, incluindo contaminação potencial com amplicons produzidos por meio de PCR, deve ser avaliada cuidadosamente antes do compartilhamento. Os laboratórios devem entrar em contato com as plataformas de compartilhamento de sequências para atualizar as sequências parciais enviadas anteriormente, se um erro for identificado e corrigido. O compartilhamento das leituras brutas de sequenciamento viral (ou seja, todos os fragmentos sequenciados individuais de um genoma viral antes de serem agrupados em um genoma de consenso) é importante porque permite a comparação direta do efeito de diferentes abordagens de bioinformática para geração de genoma de consenso e facilita a correção de erros, se necessário. Dado o grande tamanho de dados das bibliotecas sequenciadas, o compartilhamento de dados em nível de leitura pode ser mais desafiador em locais com velocidade de upload de internet limitada ou conexão intermitente. Todos os dados compartilhados devem proteger o anonimato do paciente. Para garantir o anonimato do paciente, os dados brutos contendo leituras humanas devem ser filtrados para reter apenas GSD não humano (ou seja, viral) antes do compartilhamento. (43) O compartilhamento dos metadados vinculados, como data de coleta da amostra ou local de amostragem aproximado, é necessário para

permitir que os dados de sequência sejam usados em muitas aplicações filogenéticas. No entanto, deve ser cuidadosamente levado em consideração quais metadados podem ser razoavelmente compartilhados sem comprometer o anonimato do paciente.

As análises preliminares de GSD são frequentemente compartilhadas por meio de fóruns, plataformas e servidores de preprint. (70-72) Por meio de suas publicações, como em todos os relatórios científicos, os cientistas devem levar em consideração os pontos fortes e fracos de suas análises e o modo como as análises podem ser interpretadas ou apresentadas por vários públicos antes da revisão por pares. Os cientistas são encorajados a fornecer uma interpretação clara de suas descobertas, de modo que sejam minimizados mal-entendidos ou o uso indevido dos resultados.

4. Objetivos de saúde pública do sequenciamento genômico do SARS-CoV-2

A seguir estão resumidos exemplos dos principais objetivos de saúde pública do sequenciamento do SARS-CoV-2; para descrições detalhadas, consulte o guia de implementação do sequenciamento do SARS-CoV-2. (17)

4.1 Identificação e caracterização do SARS-CoV-2 e desenvolvimento de contramedidas

O compartilhamento da sequência genética completa do novo vírus, no início de janeiro de 2020, foi fundamental para caracterizar o SARS-CoV-2, permitindo o rápido desenvolvimento de diagnósticos e apoiando o desenvolvimento de terapias e vacinas. (73-80) O sequenciamento genômico aprimora nossa compreensão das origens e da transmissão de novos vírus. Ao estudar os genomas SARS-CoV-2 iniciais disponíveis em Wuhan, República Popular da China e áreas vizinhas, foi possível determinar que a última data possível de emergência em seres humanos foi entre novembro e dezembro de 2019. (74, 75, 81, 82) A amostragem de uma ampla gama de animais está apoiando a pesquisa relacionada à identificação da origem animal inicial e/ou de possíveis hospedeiros intermediários. (81, 83, 84)

4.2 Monitoramento de transmissão e disseminação geográfica

A filogenética é um método para investigação das relações evolutivas entre diferentes organismos usando suas sequências genéticas. É usado em quase todos os ramos da biologia e tem muitas aplicações importantes na informação de respostas de saúde pública. (17, 85-87) A disponibilidade de dados epidemiológicos ou clínicos relacionados à amostragem da sequência genômica do vírus (muitas vezes referida como metadados; por exemplo: data de amostragem, localização do paciente, parâmetros clínicos) aumenta a interpretação das análises filogenéticas. Os metadados necessários diferem de acordo com o objetivo do sequenciamento genômico. Os aspectos técnicos das análises filogenéticas e filodinâmicas, metadados e riscos comuns de má interpretação podem ser encontrados no guia de implementação do sequenciamento do SARS-CoV-2. (17)

4.2.1 Investigação da disseminação geográfica e reintroduções nas populações

Estão sendo utilizadas análises filogeográficas que usam sequências genômicas virais e informações sobre o local de amostragem para rastrear a circulação do SARS-CoV-2 em todo o mundo. (13, 47, 88-90) As reconstruções filogeográficas são frequentemente exigentes do ponto de vista computacional, e as estratégias de subamostragem podem ajudar a reduzir essa carga computacional. Pode ser valioso inferir a movimentação do vírus ou país de origem de clados/linhagens específicos, mas isso deve ser feito com cautela porque vários fatores podem influenciar a reconstrução filogeográfica. Por exemplo, a falta de genomas de SARS-CoV-2 disponíveis em certas áreas pode tornar menos provável que essas áreas sejam reconstruídas como a origem geográfica de uma linhagem/clado. Em alguns bancos de dados, as sequências genômicas podem estar associadas com a localização da amostra do vírus, em vez de com a localização suspeita da infecção de um paciente. Se a localização diferir porque um paciente viajou entre o momento da infecção e o da amostragem do vírus, a análise filogeográfica pode resultar em reconstrução imprecisa da origem de clados/linhagens específicas. (91) Esses resultados devem ser interpretados com cautela e não com a suposição de que os resultados filogeográficos representam os verdadeiros padrões de propagação viral espaço-temporal.

Também podem ser usados métodos para inferir a propagação espaço-temporal de um surto para investigar os fatores que impulsionaram a dispersão do vírus. (92) A identificação dos impulsionadores de transmissão pode ajudar a criar novas estratégias para prevenir a disseminação. Essa abordagem foi usada, por exemplo, nos surtos de doença do vírus ebola na África Ocidental. (93, 94) Para o SARS-CoV-2, vários países têm usado o sequenciamento genômico para estabelecer a contribuição da transmissão local em comparação com a importação de casos e usou essa informação para ajudar na tomada de decisões sobre políticas. (89, 90, 95-100) A identificação filodinâmica de fatores que são importantes para a compreensão da transmissão é muitas vezes exigente em termos computacionais e requer a curadoria de dados extensos sobre fatores explicativos em potencial (por exemplo, densidade da popula-

ção humana, mobilidade humana). As análises são, portanto, frequentemente concluídas semanas ou meses após o sequenciamento genômico do vírus. No entanto, até mesmo as análises retrospectivas são úteis para orientar as intervenções para o SARS-CoV-2 ou possíveis patógenos emergentes.

4.2.2 Avaliação de evidências em rotas de transmissão ou clusters

O agrupamento filogenético tem sido usado para apoiar as investigações de clusters e surto de SARS-CoV-2. As análises de grupos de transmissão podem orientar as decisões locais sobre a necessidade de medidas de controle para prevenir transmissão futura em locais onde foram identificados surtos. (101) Dada a taxa evolutiva relativamente lenta do SARS-CoV-2 (ou seja, uma substituição de nucleotídeo a cada duas semanas), espera-se que muitos eventos de transmissão individuais não sejam rastreáveis com base em dados de sequência genômica. (35) O agrupamento filogenético de sequências de pacientes com a mesma fonte hipotética de exposição seria condizente com essa exposição (embora não seja uma evidência forte disso). Em contraste, a separação filogenética de sequências de vírus de pacientes com a mesma fonte hipotética de exposição indicaria fortemente que a fonte comum de infecção foi identificada incorretamente.

4.2.3 Quantificação dos períodos de transmissão e acompanhamento do número de reprodução ao longo do tempo

As abordagens filogenéticas de relógio molecular podem ajudar a estimar o limite superior e o inferior do tempo de circulação das linhagens genéticas do vírus amostrado em uma determinada população. (74, 90, 102-106) Essa abordagem pode fornecer informações mais precisas sobre o período de transmissão viral do que a identificação clínica dos casos, principalmente nas fases iniciais ou tardias de um surto, quando a vigilância é limitada. O estudo da variação nas sequências genômicas detectadas pode determinar se há transmissão local clinicamente não detectada. Nesses locais, precisariam ser implementados programas aprimorados de vigilância diagnóstica onde houver suspeita de circulação não detectada.

A análise da sequência genômica também pode estimar quantos indivíduos são infectados por um indivíduo em uma determinada população [número de reprodução (R0)] e apoiar a avaliação das mudanças relativas no tamanho do surto ao longo do tempo. Essas informações podem ser usadas para avaliar o impacto de medidas de controle específicas.

4.2.4 Vigilância ambiental em águas residuais e esgoto

Para patógenos como o poliovírus, o monitoramento de águas residuais é uma ferramenta importante para rastrear a circulação silenciosa de vírus em uma comunidade. Essa abordagem oferece oportunidades para detectar a circulação (antes que os pacientes iniciais tenham sido detectados clinicamente), estimar a prevalência e compreender a ligação e a diversidade genética. (107, 108) Vários países demonstraram a detecção molecular do RNA do SARS-CoV-2 em águas residuais. (109-115) Consequentemente, a vigilância ambiental é uma abordagem promissora, especialmente em ambientes de baixa prevalência, para identificar portadores não reconhecidos e servir como um sistema de “alerta precoce” da introdução ou de mudanças na prevalência do SARS-CoV-2. (109, 116, 117)

4.2.5 Investigação de reinfecções em potencial

Os coronavírus sazonais podem reinfetar humanos. (118) Para o SARS-CoV-2, foram documentados casos de reinfecção. (119-124) Nesse contexto, as sequências genômicas do SARS-CoV-2 amostradas a partir do primeiro episódio e de episódios subsequentes podem ser comparadas para determinar se a nova detecção do SARS-CoV-2 em um indivíduo é uma reinfecção ou o resultado de excreção viral prolongada. (125, 126) Se as sequências de cada episódio tiverem fortes distinções genéticas como, por exemplo, se ocorrerem em linhagens/clados diferentes e bem documentados, os episódios subsequentes podem ser considerados reinfecções. São necessárias investigações sorológicas concomitantes para entender se a reinfecção está associada a uma cepa antígenicamente distinta ou à ausência de uma resposta imune protetora a partir da infecção inicial. O sequenciamento pode, portanto, apoiar melhor compreensão da frequência e dos possíveis fatores de risco para reinfecção. (125, 126)

4.3 Monitoramento da evolução do SARS-CoV-2

4.3.1 Avaliação estruturada de mutações possivelmente relevantes

O sequenciamento genômico pode ser usado para identificar substituições genéticas que podem alterar as características da infecção viral (alteração fenotípica), tais como transmissibilidade ou virulência. Todos os vírus adquirem alterações genéticas à medida que circulam, mas a grande maioria das alterações adquiridas não afeta substancialmente o comportamento do vírus. No entanto, raras alterações genéticas no SARS-CoV-2 podem causar alterações fenotípicas relevantes de importância para a saúde pública. É difícil

identificar e demonstrar o impacto dessas alterações. Em geral, é difícil estabelecer com segurança se o aumento na prevalência relativa de determinada(s) mutação(ões) ao longo do tempo se deve a uma diferença fenotípica. A predominância de um clado/linhagem viral específico em uma população, por exemplo, pode ser devida mais ao comportamento da população humana infectada do que ao comportamento do próprio vírus. Na maioria das vezes, esses padrões são provavelmente estocásticos. No entanto, se a análise filogenética sugere um possível impacto epidemiológico ou clínico de mutações/variantes específicas, são necessários estudos genômicos clínicos adequadamente conduzidos para avaliar as variantes candidatas que podem conferir ao vírus alterações fenotípicas clinicamente observáveis. As alterações genéticas propostas para causar alterações fenotípicas devem ser avaliadas usando abordagens padronizadas, incluindo estudos de modelagem de proteínas para avaliar o impacto potencial e experimentos *in vitro* ou *in vivo* com um vírus mutante (clones) com as mutações específicas de interesse para confirmar ou rejeitar as propriedades específicas das variantes candidatas. Foi estabelecido um Grupo de Trabalho da OMS dedicado, derivado da Rede de Laboratórios de Referência para SARS-CoV-2 da OMS. Esse Grupo de Trabalho da Evolução do SARS-CoV-2 (SEWG) concentra-se na evolução do SARS-CoV-2 a fim de fornecer à OMS a identificação e avaliação oportuna de mutações potencialmente relevantes, bem como aconselhamento para mitigação de risco. (16, 40, 127)

4.3.2 Monitoramento do impacto da evolução do SARS-CoV-2 nas contramedidas

No mínimo, a vigilância global dos genomas do SARS-CoV-2 deve detectar idealmente o surgimento de linhagens do SARS-CoV-2 com variantes genéticas que afetem a efetividade das contramedidas. O monitoramento de alterações genômicas do SARS-CoV-2 que possam reduzir a eficácia da vacina deve acompanhar o lançamento das campanhas de vacinação contra o SARS-CoV-2. O monitoramento e a investigação das possíveis causas de falha da vacina devem incluir avaliações genômicas para avaliar os possíveis mutantes de escape viral. Além disso, o sequenciamento pode ajudar na identificação de mutantes de escape para anticorpos monoclonais (128) e terapias futuras. O monitoramento genômico para identificar resistência a medicamentos tem sido usado para outros patógenos, incluindo gripe, HIV e *Mycobacterium tuberculosis*. (9, 129)

O sequenciamento genômico também pode ser usado para monitorar alterações genéticas virais que afetem o diagnóstico molecular. O uso de vários alvos para detecção do SARS-CoV-2, como um PCR multiplex direcionado a duas ou mais regiões do genoma viral, é uma abordagem custo-efetiva para reduzir a chance de falsos negativos nos ensaios como resultado da evolução do vírus. (47, 127) O sequenciamento do genoma do vírus ou do gene-alvo pode ser realizado quando houver falha contínua na detecção de um alvo ou diferenças recentemente observadas na sensibilidade de ensaios direcionados a diferentes regiões, a fim de identificar a possível causa. Para obter informações adicionais, consulte as orientações provisórias sobre o diagnóstico de infecções por SARS-CoV-2. (47) As mutações virais também podem impactar o antígeno ou o ensaio sorológico, e o sequenciamento genômico pode ajudar a detectar possíveis falhas desses ensaios em um estágio inicial. (130-132)

4.3.3 Evolução do SARS-CoV-2 na interface humano-animal

Quando um vírus é transmitido de uma espécie para outra, o vírus pode se adaptar a seu novo hospedeiro. O receptor ACE-2 visado pelo SARS-CoV-2 é semelhante nos seres humanos e em uma ampla variedade de animais (principalmente mamíferos). (133, 134) Existe, portanto, potencial para a transmissão de seres humanos para animais (antropozoonose). Embora a homologia do ACE-2 sugira que outros animais possam ser suscetíveis ao SARS-CoV-2, outras proteínas críticas para a replicação viral podem diferir e prevenir infecções nesses animais candidatos. Portanto, são necessários dados apropriados do mundo real ou de infecção experimental para determinar a suscetibilidade de animais específicos. Vários animais mostraram ser suscetíveis ao SARS-CoV-2 (15, 127, 135-151), e sabe-se que o SARS-CoV-2 é transmissível em certas espécies animais (por exemplo, martas e hamsters). Também foi demonstrada a resistência de algumas espécies animais à infecção por SARS-CoV-2. Podem surgir alterações genéticas na sequência que codifica a proteína viral da espícula que se liga aos receptores ACE-2, facilitando um salto para novas espécies hospedeiras. A proteína da espícula do SARS-CoV-2, especialmente o RBD, é um alvo crítico para a imunidade natural e induzida por vacina. (28-32) A diversificação das regiões genômicas que codificam a proteína da espícula já foi observada em casos em que seres humanos infectados com SARS-CoV-2 infectaram visons e houve transmissão zoonótica secundária de volta para hospedeiros humanos. (149) Portanto, a diversificação do gene da espícula após transmissão mútua humano-animal do SARS-CoV-2 provavelmente aumenta o risco de surgimento de cepas que podem facilmente reinfectar seres humanos e podem estar associadas à redução da eficácia da vacina ou à amenização das terapias com anticorpos monoclonais. (33) Para evitar que esses eventos ocorram, os países são incentivados a realizar avaliações de risco sobre a possível disseminação para outras espécies que vivem com ou perto de humanos em ambientes domésticos, rurais, agrícolas ou zoológicos. (127, 152-154) Precisam ser estabelecidas estratégias de mitigação de risco, sendo necessário monitoramento adequado para garantir a detecção oportuna desses eventos. O monitoramento exige recursos, devendo ser adotadas estratégias direcionadas sempre que possível. Isso exige uma estratégia *One Health* na qual diversas disciplinas trabalhem juntas, incluindo saúde pública, saúde clínica e ocupacional, autoridades veterinárias e de vida selvagem e gestão de recursos flo-

restais e naturais. (127, 152, 155-157) Essa colaboração também deve se concentrar no desenvolvimento de investigação conjunta de surtos e prevenção de infecção e protocolos de controle, teste de seres humanos e animais potencialmente infectados e compartilhamento de dados de sequência. Quando é observada infecção antroponótica ou infecção zoonótica secundária, o sequenciamento dos genomas do vírus pode ajudar a avaliar os possíveis novos riscos associados a esses eventos.

Métodos

Esta orientação provisória foi desenvolvida em conjunto com o guia de implementação do *Sequenciamento genômico do SARS-CoV-2: guia de implementação para máximo impacto na saúde pública*. O guia de implementação foi desenvolvido em consulta com especialistas com experiência em vários campos de sequenciamento genômico da Aliança Laboratorial Global de Patógenos de Alta Ameaça (GLAD-HP), da rede de referência para testes de confirmação para COVID-19, e do Rede Global de Alerta e Resposta a Surtos (GOARN). Após discussões iniciais por um grupo de redação técnica liderado por um consultor temporário e membros da Equipe de Laboratório para COVID-19 da OMS, foram solicitadas contribuições de outros especialistas de dentro e fora da OMS, e duas reuniões on-line foram realizadas para resolver questões pendentes. Posteriormente, esta orientação provisória foi elaborada para as partes interessadas nacionais, contendo resumo das informações relevantes desta orientação provisória e informações adicionais relevantes para este público-alvo. Esta orientação provisória foi posteriormente distribuída aos especialistas que apoiaram a redação do guia de implementação, a rede de referência para testes confirmatórios para COVID-19, os pontos focais dos laboratórios regionais e outras partes interessadas, conforme citado nos agradecimentos, para que dessem sua contribuição.

Planos de atualização

A OMS continua monitorando a situação de perto em busca de quaisquer alterações que possam afetar esta orientação provisória. Se algum fator mudar, a OMS publicará uma nova atualização. Caso contrário, este documento de orientação provisória expirará dois anos após a data de publicação.

Contribuidores

Grupo diretor da OMS: Celine Barnadas; Sebastian Cognat; Roger Evans; Bruce Allan Gordon; Varja Grabovac; Rebecca Grant; Francis Inbanathan; Frank Konings; Karen Nahapetyan; Marco Marklewitz; Marie-jo Medina; Kate Olive Medlicott; Mick Mulders; Mark D Perkins; Magdi Samaan; Oliver Schmoll, Maria Van Kerkhove; Karin von Eije; Joanna Zwetyenga.

Contribuidores externos: Kim Benschop, Instituto Nacional de Saúde Pública e Meio Ambiente da Holanda (RIVM), Bilthoven, Holanda; Antonino di Caro, Instituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, Itália; Nuno Rodrigues Faria, Imperial College, Londres e Universidade de Oxford, Oxford, Reino Unido; Tanya Golubchik, Universidade de Oxford, Oxford, Reino Unido; Keith Hamilton, Organização Mundial de Saúde Animal (OIE); Edward Holmes, Universidade de Sydney, Sydney, Austrália; Sarah C Hill, Royal Veterinary College, Londres e Universidade de Oxford, Oxford, Reino Unido; Erik Karlsson, Institut Pasteur de Cambodge, Camboja; Meng Ling Moi, Universidade de Nagasaki, Nagasaki, Japão; Leo Poon, Universidade de Hong Kong, Região Administrativa Especial de Hong Kong (SAR), China; James Shepherd, Universidade de Glasgow, Glasgow, Reino Unido; Etienne Simon-Loriere, Instituto Pasteur, Paris, França. E outros especialistas que contribuíram para o guia de implementação do sequenciamento do SARS-CoV-2 que serviu de base para este documento: Kristian Andersen, Scripps Research, La Jolla, CA, EUA; Julio Croda, Ministério da Saúde, Rio de Janeiro, Brasil; Túlio de Oliveira, Universidade de KwaZulu- Natal, Durban, África do Sul; Simon Dellicour, Universidade Livre de Bruxelas, Bruxelas, Bélgica; Nathan Grubaugh, Universidade de Yale, New Haven, CT, EUA; Liana Kafetzopoulou, KU Leuven – Universidade de Leuven, Bélgica; Marion Koopmans, Erasmus MC, Rotterdam, Holanda; Tommy Lam, Universidade de Hong Kong, RAE de Hong Kong, China; Philippe Lemey, KU Leuven – Universidade de Leuven, Bélgica; Tze Minn Mak, Centro Nacional de Doenças Infecciosas, Singapura; Marcio Roberto Nunes, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, Pará, Brasil; Bas Oude Munnink, Erasmus MC, Rotterdam, Holanda; Gustavo Palacios, Agência para o Desenvolvimento Internacional, dos Estados Unidos, Washington, DC, EUA; Steven Pullan, Public Health England, Londres, Reino Unido; Timothy Vaughan, Eidgenössische Technische Hochschule Zurich (ETH Zurich), Zurique, Suíça; Josh Quick, Universidade de Birmingham, Birmingham, Reino Unido; Andrew Rambaut, Universidade de Edimburgo, Edimburgo, Reino Unido; Chantal Reusken, RIVM, Bilthoven, Holanda; Tanja Stadler, Eidgenössische Technische Hochschule Zurich (ETH Zurich), Suíça; Marc Suchard, Universidade da Califórnia em Los Angeles, Los Angeles, CA, EUA; Huaiyu Tian, Universidade Normal de Pequim, Pequim, China; Lia van der Hoek, Amsterdam Medical Center, Amsterdam, Holanda; Erik Volz, Imperial College, Londres, Reino Unido.

Declaração de interesses

Todos os colaboradores enviaram documentos de declaração de interesse para análise. Os colaboradores que foram determinados como tendo um potencial conflito de interesses ou viés em relação a produtos específicos foram excluídos do aconselhamento sobre a seleção da plataforma.

Financiamento

Financiado pela OMS

Referências

- Fraser C, Donnelly CA, Cauchemez S, Hanage WP, Van Kerkhove MD, Hollingsworth TD, et al. Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): early findings. *Science*. 2009;324:1557–61. doi: 10.1126/science.1176062.
- Rambaut A, Holmes E. The early molecular epidemiology of the swine-origin A/H1N1 human influenza pandemic. *PLoS Curr*. 2009;1:RRN1003. doi: 10.1371/currents.rn1003.
- Smith GJD, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature*. 2009;459:1122–5. doi: 10.1038/nature08182.
- Mena I, Nelson MI, Quezada-Monroy F, Dutta J, Cortes-Fernández R, Lara-Puente JH, et al. Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico. *eLife*. 2016;5:e16777. doi: 10.7554/eLife.16777.
- Ladner JT, Wiley MR, Mate S, Dudas G, Prieto K, Lovett S, et al. Evolution and spread of Ebola virus in Liberia, 2014–2015. *Cell Host Microbe*. 2015;18:659–69. doi: 10.1016/j.chom.2015.11.008.
- Stadler T, Kühnert D, Rasmussen DA, Plessis dL. Insights into the early epidemic spread of Ebola in Sierra Leone provided by viral sequence data. *PLoS Curr*. 2014;6. doi: 10.1371/currents.outbreaks.02bc6d927ecee7bbd33532ec8ba6a25f.
- Smits SL, Pas SD, Reusken CB, Haagmans BL, Pertile P, Cancedda C, et al. Genotypic anomaly in Ebola virus strains circulating in Magazine Wharf area, Freetown, Sierra Leone, 2015. *Euro Surveill*. 2015;20. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.40.30035.
- Sequenciamento do genoma completo para vigilância da resistência a antimicrobianos GLASS. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/334354>, acessado em 20 de novembro de 2020).
- O uso de tecnologias de sequenciamento de última geração para a detecção de mutações associadas à resistência a drogas no complexo *Mycobacterium tuberculosis*: orientação técnica. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/274443>, acessado em 15 de novembro de 2020).
- Sequenciamento de genoma completo para vigilância de doenças transmitidas por alimentos: panorama. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/272430>, acessado em 25 de novembro de 2020).
- Sequenciamento de próxima geração do vírus da gripe: informações gerais para centros nacionais de gripe. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/national_influenza_centres/NGS_guidance_for_NICs.pdf?ua=1, acessado em 20 de novembro de 2020).
- GISAID (<https://www.gisaid.org/>, acessado em 5 de janeiro de 2021).
- Genomic epidemiology of novel coronavirus: global subsampling [website]. Nextstrain; 2020 (<https://nextstrain.org/ncov/global>, acessado em 4 de dezembro de 2020).
- Volz E, Baguelin M, Bhatia S, Boonyasiri A, Cori A, Cucunuba Z, et al. Report 5 - phylogenetic analysis of SARS-CoV-2. London: Imperial College London; 2020 (<http://www.imperial.ac.uk/medicine/departments/school-public-health/infectious-disease-epidemiology/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-5-phylogenetics-of-sars-cov-2/>, acessado em 26 de junho de 2020).
- Oude Munnink BB, Sikkema RS, Nieuwenhuijse DF, Molenaar RJ, Munger E, Molenkamp R, et al. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science*. 2020. doi: 10.1126/science.abe5901.
- Doença causada pelo coronavírus (COVID-19): relatório da situação – 185 Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200723-covid-19-sitrep-185.pdf?sfvrsn=9395b7bf_2, acessado em 15 de novembro de 2020).
- Sequenciamento genômico do SARS-CoV-2: guia de implementação para máximo impacto na saúde pública. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020. (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338480/9789240018440-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, acessado em 8 de janeiro de 2021)
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV); 2020 (<https://talk.ictvonline.org/>, acessado em 27 de julho de 2020).
- Gorbalenya ABS, Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, et al. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5:536–44. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.
- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382:727–33. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866:165878. doi: 10.1016/j.bbdis.2020.165878.
- Yoshimoto FK. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2 or n-CoV19), the cause of COVID-19. *Protein J*. 2020;39:198–216. doi: 10.1007/s10930-020-09901-4.

23. Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*. 2020;181:914-21 e10. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.011.
24. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395:565–74. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
25. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367:1444–8. doi: 10.1126/science.abb2762.
26. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24:422. doi: 10.1186/s13054-020-03120-0.
27. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181:271-80 e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
28. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity*. 2020;52:583-9. doi: 10.1016/j.immuni.2020.03.007.
29. Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*. 2020;369:643–50. doi: 10.1126/science.abc5902.
30. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*. 2020;17:613–20. doi: 10.1038/s41423-020-0400-4.
31. Shi R, Shan C, Duan X, Chen Z, Liu P, Song J, et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;584:120–4. doi: 10.1038/s41586-020-2381-y.
32. Rogers TF, Zhao F, Huang D, Beutler N, Burns A, He WT, et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. *Science*. 2020;369:956–63. doi: 10.1126/science.abc7520.
33. Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, Liu S, et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. *Cell*. 2020;182:1284–94 e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.07.012.
34. 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;369:1255–60. doi: 10.1126/science.abd2161.
35. van Dorp L, Acman M, Richard D, Shaw LP, Ford CE, Ormond L, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol*. 2020;83:104351. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104351.
36. Xu W, Zhang Y, Wang H, Zhu Z, Mao N, Mulders MN, et al. Global and national laboratory networks support high quality surveillance for measles and rubella. *Int Health*. 2017;9:184-9. doi: 10.1093/inthealth/ihx017.
37. Mulders MN, Serhan F, Goodson JL, Icenogle J, Johnson BW, Rota PA. Expansion of surveillance for vaccine-preventable diseases: building on the global polio laboratory network and the global measles and rubella laboratory network platforms. *J Infect Dis*. 2017;216:S324–S30. doi: 10.1093/infdis/jix077.
38. Diop OM, Kew OM, de Gourville EM, Pallansch MA. The global polio laboratory network as a platform for the viral vaccine- preventable and emerging diseases laboratory networks. *J Infect Dis*. 2017;216:S299-S307. doi: 10.1093/infdis/jix092.
39. Hay AJ, McCauley JW. The WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS): a future perspective. *Influenza Other Respir Viruses*. 2018;12:551-7. doi: 10.1111/irv.12565.
40. Termos de referência para laboratórios de referência da OMS que fornecem testes de confirmação para COVID-19. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (<https://www.who.int/publications/m/item/terms-of-reference-for-who-reference-laboratories-providing-confirmatory-testing-for-covid-19>, acessado em 26 de junho de 2020).
41. RubeNS database for rubella sequences (<http://www.who-rubella.org/>, acessado em 26 de junho de 2020).
42. MeaNS: Measles nucleotide surveillance (<http://www.who-measles.org>, acessado em 26 de junho de 2020).
43. Roy S, LaFramboise WA, Nikiforov YE, Nikiforova MN, Routbort MJ, Pfeifer J, et al. Next-generation sequencing informatics: challenges and strategies for implementation in a clinical environment. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140:958–75. doi: 10.5858/arpa.2015-0507-RA.
44. Mutenherwa F, Wassenaar DR, de Oliveira T. Experts’ perspectives on key ethical issues associated with HIV phylogenetics as applied in HIV transmission dynamics research. *J Empir Res Hum Res Ethics*. 2019;14:61-77. doi: 10.1177/1556264618809608.
45. Emanuel EJ, Wendler D, Grady C. What makes clinical research ethical? *JAMA*. 2000;283:2701-11. doi: 10.1001/jama.283.20.2701.
46. Diretrizes sobre questões éticas na vigilância em saúde pública da OMS. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2017 (<https://www.who.int/ethics/publications/public-health-surveillance/en/>, acessado em 15 de novembro de 2020).
47. Teste diagnóstico para SARS-CoV-2: orientação provisória. 11 de setembro de 2020. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (<https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>, acessado em 6 de dezembro de 2020).
48. MacCannell D. SARS-CoV-2 sequencing (https://github.com/CDCgov/SARS-CoV-2_Sequencing, acessado em 1º de novembro de 2020).
49. Cesare MD. Probe-based target enrichment of SARS-CoV-2 [Protocol]. University of Oxford; 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bd5di826.
50. Vogels CBF, Brito AF, Wyllie AL, Fauver JR, Ott IM, Kalinich CC, et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT–qPCR primer-probe sets. *Nat Microbiol*. 2020;5:1299-1305. doi: 10.1038/s41564-020-0761-6.
51. Quick J, Grubaugh ND, Pullan ST, Claro IM, Smith AD, Gangavarapu K, et al. Multiplex PCR method for minION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nat Protoc*. 2017;12:1261-76. doi: 10.1038/nprot.2017.066.
52. Grubaugh ND, Gangavarapu K, Quick J, Matteson NL, De Jesus JG, Main BJ, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol*. 2019;20:8. doi: 10.1186/s13059-018-1618-7.
53. Matteson N, Grubaugh N, Gangavarapu K, Quick J, Loman N, Andersen K. PrimalSeq: Generation of tiled virus amplicons for MiSeq sequencing [Protocol]. 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bez7jf9n.
54. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol*. 2017;35:833–44. doi: 10.1038/nbt.3935.

55. Bragg L, Tyson GW. Metagenomics using next-generation sequencing. *Methods Mol Biol.* 2014;1096:183-201. doi: 10.1007/978-1-62703-712-9_15.
56. Xiao M, Liu X, Ji J, Li M, Li J, Yang L, et al. Multiple approaches for massively parallel sequencing of SARS-CoV-2 genomes directly from clinical samples. *Genome Med.* 2020;12:57. doi: 10.1186/s13073-020-00751-4.
57. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol.* 2020;5:1403-7. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5.
58. Singer J, Gifford R, Cotten M, Robertson D. CoV-GLUE: A web application for tracking SARS-CoV-2 genomic variation. Preprints. 2020:2020060225. doi: 10.20944/preprints202006.0225.v1.
59. CoVsurver: mutation analysis of hCoV-19. GISAID (<https://www.gisaid.org/epiflu-applications/covsurver-mutations-app/>, acessado em 11 de dezembro de 2020).
60. Pangolin COVID-19 lineage assigner (<https://pangolin.cog-uk.io/>, acessado em 11 de dezembro de 2020).
61. Fauquet CM, Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. *Virology.* 2005;2:64. doi: 10.1186/1743-422X-2-64.
62. Alm E, Broberg EK, Connor T, Hodcroft EB, Komissarov AB, Maurer-Stroh S, et al. Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001410.
63. Declaração de política sobre compartilhamento de dados pela OMS no contexto de emergências de saúde pública (em 13 de abril de 2016). Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2016 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/254440>, acessado em 25 de novembro de 2020).
64. Estrutura de preparação para a pandemia de gripe, para o compartilhamento de vírus da gripe e acesso a vacinas e outros benefícios. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2011 (https://apps.who.int/gb/pip/pdf_files/pandemic-influenza-preparedness-en.pdf, acessado em 20 de novembro de 2020).
65. Conselho Executivo, 140ª sessão, item 7.5 da agenda provisória Revisão da estrutura de preparação para uma pandemia de gripe, relatório do Diretor-Geral. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2016 (https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB140/B140_16-en.pdf?ua=1, acessado em 15 de novembro de 2020).
66. Recomendações de estratégia de teste de laboratório para COVID-19. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509>, acessado em 6 de dezembro de 2020).
67. Orientação para laboratórios que enviam amostras aos laboratórios de referência da OMS que fornecem testes de confirmação para o vírus COVID-19. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331639>, acessado em 4 de dezembro de 2020).
68. Ensaio molecular para diagnosticar a COVID-19: tabela de resumo dos protocolos disponíveis. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (<https://www.who.int/who-documents-detail/molecular-assays-to-diagnose-covid-19-summary-table-of-available-protocols>, acessado em 4 de dezembro de 2020).
69. Ficha técnica: dados de sequência genética e bancos de dados. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2018 (https://www.who.int/influenza/pip/GSD_EN_V2_10Sep2018.pdf?ua=1, acessado em 11 de dezembro de 2020).
70. medRxiv: The Preprint Server for Health Sciences (<https://www.medrxiv.org/>, acessado em 1º de novembro de 2020).
71. bioRxiv: The Preprint Server for Biology (<https://www.biorxiv.org/>, acessado em 1º de novembro de 2020).
72. Virological (<https://virological.org/>, acessado em 1º de novembro de 2020).
73. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579:265-9. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
74. Lu J, du Plessis L, Liu Z, Hill V, Kang M, Lin H, et al. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 in Guangdong Province, China. *Cell.* 2020;181:997-1003.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.023.
75. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579:270-3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
76. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
77. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases by RT-PCR. Hong Kong University Medical School; 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/peiris-protocol-16-1-20.pdf?sfvrsn=af1aac73_4, acessado em 1º de dezembro de 2020).
78. Melén K, Kakkola L, He F, Airene K, Vapalahti O, Karlberg H, et al. Production, purification and immunogenicity of recombinant Ebola virus proteins: a comparison of Freund's adjuvant and adjuvant system 03. *J Virol Methods.* 2017;242:35-45. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.12.014.
79. Esboço do panorama das vacinas candidatas contra a COVID-19. Genebra: Organização Mundial da Saúde (<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>, acessado em 26 de junho de 2020).
80. Ren Y, Zhou Z, Liu J, Lin L, Li S, Wang H, et al. A strategy for searching antigenic regions in the SARS-CoV spike protein. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2003;1:207-15. doi: 10.1016/s1672-0229(03)01026-x.
81. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382:1199-207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
82. Andersen K. Clock and TMRCA based on 27 genomes. Scripps Research; 2020 (<https://virological.org/t/clock-and-tmrca-based-on-27-genomes/347>, acessado em 26 de junho de 2020).

83. Relatório da missão conjunta OMS-China sobre a doença causada pelo coronavírus 2019 (COVID-19). Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 ([https://www.who.int/publications-detail-redirect/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail-redirect/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-(covid-19))), acessado em 15 de julho de 2020).
84. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17:181-92. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.
85. Grenfell BT, Pybus OG, Gog JR, Wood JLN, Daly JM, Mumford JA, et al. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. *Science.* 2004;303:327-32. doi: 10.1126/science.1090727.
86. Volz EM, Koelle K, Bedford T. Viral phylodynamics. *PLoS Comput Biol.* 2013;9. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002947.
87. Pybus OG, Rambaut A. Evolutionary analysis of the dynamics of viral infectious disease. *Nat Rev Genet.* 2009;10:540-50. doi: 10.1038/nrg2583.
88. Lai A, Bergna A, Caucci S, Clementi N, Vicenti I, Dragoni F, et al. Molecular tracing of SARS-CoV-2 in Italy in the first three months of the epidemic. *Viruses.* 2020;12. doi: 10.3390/v12080798.
89. Fauver JR, Petrone ME, Hodcroft EB, Shioda K, Ehrlich HY, Watts AG, et al. Coast-to-coast spread of SARS-CoV-2 during the early epidemic in the United States. *Cell.* 2020;181:990-6.e5. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.021.
90. Candido DdS, Claro IM, Jesus dJG, Souza dWM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science.* 2020;369:1255-60. doi: 10.1101/2020.06.11.20128249.
91. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: a SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
92. Lemey P, Rambaut A, Bedford T, Faria N, Bielejec F, Baele G, et al. Unifying viral genetics and human transportation data to predict the global transmission dynamics of human influenza H3N2. *PLoS Pathog.* 2014;10:e1003932. doi: 10.1371/journal.ppat.1003932.
93. Dudas G, Carvalho LM, Bedford T, Tatem AJ, Baele G, Faria NR, et al. Virus genomes reveal factors that spread and sustained the Ebola epidemic. *Nature.* 2017;544:309-15. doi: 10.1038/nature22040.
94. Dellicour S, Baele G, Dudas G, Faria NR, Pybus OG, Suchard MA, et al. Phylodynamic assessment of intervention strategies for the West African Ebola virus outbreak. *Nat Commun.* 2018;9:1-9. doi: 10.1038/s41467-018-03763-2.
95. Lemey P, Rambaut A, Drummond AJ, Suchard MA. Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Comput Biol.* 2009;5:e1000520. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000520.
96. Lemey P, Rambaut A, Welch JJ, Suchard MA. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. *Mol Biol Evol.* 2010;27:1877-85. doi: 10.1093/molbev/msq067.
97. Bloomquist EW, Lemey P, Suchard MA. Three roads diverged? Routes to phylogeographic inference. *Trends Ecol Evol.* 2010;25:626-32. doi: 10.1016/j.tree.2010.08.010.
98. Faria NR, Suchard MA, Rambaut A, Lemey P. Towards a quantitative understanding of viral phylogeography. *Curr Opin Virol.* 2011;1:423-9. doi: 10.1016/j.coviro.2011.10.003.
99. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: A SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv.* 2020:165464. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
100. Reusken CB, Buiting A, Bleeker-Rovers C, Diederer B, Hooiveld M, Friesema I, et al. Rapid assessment of regional SARS-CoV-2 community transmission through a convenience sample of healthcare workers, the Netherlands, March 2020. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.12.2000334.
101. Worby CJ, Lipsitch M, Hanage WP. Shared genomic variants: identification of transmission routes using pathogen deep-sequence data. *Am J Epidemiol.* 2017;186:1209-16. doi: 10.1093/aje/kwx182.
102. Duchene S, Featherstone L, Haritopoulou-Sinanidou M, Rambaut A, Lemey P, Baele G. Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. *bioRxiv.* 2020:077735. doi: 10.1101/2020.05.04.077735.
103. Volz E, Fu H, Wang H, Xi X, Chen W, Liu D, et al. Genomic epidemiology of a densely sampled COVID19 outbreak in China. *medRxiv.* 2020:20033365. doi: 10.1101/2020.03.09.20033365.
104. Bedford T, Greninger AL, Roychoudhury P, Starita LM, Famulare M, Huang M-L, et al. Cryptic transmission of SARS-CoV-2 in Washington State. *Science.* 2020;370:571-5. doi: 10.1101/2020.04.02.20051417.
105. Zehender G, Lai A, Bergna A, Meroni L, Riva A, Balotta C, et al. Genomic characterization and phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 in Italy. *J Med Virol.* 2020;92:1637-40. doi: 10.1002/jmv.25794.
106. Worobey MA-O, Pekar JA-O, Larsen BA-O, Nelson MA-O, Hill V, Joy JB, et al. The emergence of SARS-CoV-2 in Europe and North America. *Science.* 2020;370:564-70. doi: 10.1126/science.abc8169.
107. Asghar H, Diop OM, Weldegebriel G, Malik F, Shetty S, El Bassioni L, et al. Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. *J Infect Dis.* 2014;210 Suppl 1:S294-303. doi: 10.1093/infdis/jiu384.
108. Paul JR, Trask JD, Gard S. Ii. Poliomyelitic virus in urban sewage. *J Exp Med.* 1940;71:765-77. doi: 10.1084/jem.71.6.765.
109. Nemudryi A, Nemudraia A, Wiegand T, Surya K, Buyukyoruk M, Cicha C, et al. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *Cell Rep Med.* 2020;1:100098. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100098.
110. Wu F, Zhang J, Xiao A, Gu X, Lee WL, Armas F, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *mSystems.* 2020;5. doi: 10.1128/mSystems.00614-20.
111. Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, et al. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci Total Environ.* 2020;728:138764. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764.
112. Wurtzer SMV, Mouchel JM, Maday Y, Teysou R, Richard E, Almayrac JL, Moulin L. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *medRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.04.12.20062679.

113. La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, Bonanno Ferraro G, Veneri C, Bonadonna L, et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci Total Environ*. 2020;736:139652. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139652.
114. Gertjan Medema LH, Goffe Elsinga, Ronald Italiaander, Anke Brouwer. Presence of SARS-coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environ Sci Technol Lett*. 2020. doi: 10.1021/acs.estlett.0c00357.
115. Lodder W, de Roda Husman AM. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:533-4. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30087-X.
116. Informe científico: situação da vigilância ambiental do vírus SARS-CoV-2. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-sci-brief-environmentalSampling-2020-1>, acessado em 12 de dezembro de 2020).
117. Consulta rápida a especialistas sobre vigilância ambiental do SARS-CoV-2 em águas residuais: relatório resumido. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020 (<https://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/water-and-sanitation/publications/2020/rapid-expert-consultation-on-environmental-surveillance-of-sars-cov-2-in-wastewater-summary-report-2020>, acessado em 12 de dezembro de 2020).
118. Edridge AWD, Kaczorowska JM, Hoste ACR, Bakker M, Klein M, Jebbink MF, et al. Coronavirus protective immunity is short lasting. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.05.11.20086439.
119. To KK, Hung IF, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Tam AR, et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1275.
120. Goldman JD, Wang K, Roltgen K, Nielsen SCA, Roach JC, Naccache SN, et al. Reinfection with SARS-CoV-2 and failure of humoral immunity: a case report. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.09.22.20192443.
121. Gupta V, Bhojar RC, Jain A, Srivastava S, Upadhayay R, Imran M, et al. Asymptomatic reinfection in two healthcare workers from India with genetically distinct SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1451.
122. Mulder M, van der Vegt D, Oude Munnink BB, GeurtsvanKessel CH, van de Bovenkamp J, Sikkema RS, et al. Reinfection of SARS-CoV-2 in an immunocompromised patient: a case report. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1538.
123. Tillett RL, Sevinsky JR, Hartley PD, Kerwin H, Crawford N, Gorzalski A, et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *Lancet Infect Dis*. 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30764-7.
124. Van Elslande J, Vermeersch P, Vandervoort K, Wawina-Bokalanga T, Vanmechelen B, Wollants E, et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection by a phylogenetically distinct strain. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1330.
125. Common investigation protocol for investigating suspected SARS-CoV-2 reinfection. Atlanta: United States Centers for Disease Control and Prevention; 2020 (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/php/reinfection.html>, acessado em 1º de novembro de 2020).
126. Reinfection with SARS-CoV-2: considerations for public health response. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2020 (<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Re-infection-and-viral-shedding-threat-assessment-brief.pdf>, acessado em 1º de novembro de 2020).
127. Emergencies preparedness, response: SARS-CoV-2 variants. Notícias de surto de doença. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 31 de dezembro de 2020 (<https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov-2-variants/en/>, acessado em 31 de dezembro de 2020).
128. Baum A, Fulton BO, Wloga E, Copin R, Pascal KE, Russo V, et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. *Science*. 2020;369:1014-8. doi: 10.1126/science.abd0831.
129. Inzaule SC, Hamers RL, Paredes R, Yang C, Schuurman R, Rinke de Wit TF. The evolving landscape of HIV drug resistance diagnostics for expanding testing in resource-limited settings. *AIDS Rev*. 2017;19:219-30 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28182618>, acessado em 15 de novembro de 2020).
130. Sepulveda N, Phelan J, Diez-Benavente E, Campino S, Clark TG, Hopkins H, et al. Global analysis of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein-2 (pfrp2) and pfrp3 gene deletions using whole-genome sequencing data and meta-analysis. *Infect Genet Evol*. 2018;62:211-9. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.039.
131. Cremer J, Hofstraat SHI, van Heiningen F, Veldhuijzen IK, van Benthem BHB, Benschop KSM. Genetic variation of Hepatitis B surface antigen among acute and chronic Hepatitis B virus infections in the Netherlands. *J Med Virol*. 2018;90:1576-85. doi: 10.1002/jmv.25232.
132. Hollinger FB. Hepatitis B virus genetic diversity and its impact on diagnostic assays. *J Viral Hepat*. 2007;14 Suppl 1:11-5. doi: 10.1111/j.1365-2893.2007.00910.x.
133. Lam SD, Bordin N, Waman VP, Scholes HM, Ashford P, Sen N, et al. SARS-CoV-2 spike protein predicted to form complexes with host receptor protein orthologues from a broad range of mammals. *Sci Rep*. 2020;10:16471. doi: 10.1038/s41598-020-71936-5.
134. Damas J, Hughes GM, Keough KC, Painter CA, Persky NS, Corbo M, et al. Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in vertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117:22311-22. doi: 10.1073/pnas.2010146117.
135. Freuling CM, Breithaupt A, Müller T, Sehl J, Balkema-Buschmann A, Rissmann M, et al. Susceptibility of raccoon dogs for experimental SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.08.19.256800v1.
136. Schlottau K, Rissmann M, Graaf A, Schon J, Sehl J, Wylezich C, et al. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. *Lancet Microbe*. 2020;1:e218-e25. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30089-6.
137. Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*. 2020;368:1016-20. doi: 10.1126/science.abb7015.
138. Kim YI, Kim SG, Kim SM, Kim EH, Park SJ, Yu KM, et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe*. 2020;27:704-9 e2. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.023.
139. Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N Engl J Med*. 2020;383:592-4. doi: 10.1056/NEJMc2013400.

140. Ruiz-Arrondo I, Portillo A, Palomar AM, Santibanez S, Santibanez P, Cervera C, et al. Detection of SARS-CoV-2 in pets living with COVID-19 owners diagnosed during the COVID-19 lockdown in Spain: a case of an asymptomatic cat with SARS-CoV-2 in Europe. *Transbound Emerg Dis*. 2020. doi: 10.1111/tbed.13803.
141. Richard M, Kok A, de Meulder D, Bestebroer TM, Lamers MM, Okba NMA, et al. SARS-CoV-2 is transmitted via contact and via the air between ferrets. *Nat Commun*. 2020;11:3496. doi: 10.1038/s41467-020-17367-2.
142. Sia SF, Yan LM, Chin AWH, Fung K, Choy KT, Wong AYL, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2342-5.
143. Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, van Doremalen N, Pérez-Pérez L, Schulz J, et al. Respiratory disease and virus shedding in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.03.21.001628v1.
144. Zhao Y, Wang J, Kuang D, Xu J, Yang M, Ma C, et al. Susceptibility of tree shrew to SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep*. 2020;10:16007. doi: 10.1038/s41598-020-72563-w.
145. Woolsey C, Borisevich V, Prasad AN, Agans KN, Deer DJ, Dobias NS, et al. Establishment of an African green monkey model for COVID-19. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.05.17.100289.
146. Lu S, Zhao Y, Yu W, Yang Y, Gao J, Wang J, et al. Comparison of nonhuman primates identified the suitable model for COVID-19. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5:157. doi: 10.1038/s41392-020-00269-6.
147. Sit THC, Brackman CJ, Ip SM, Tam KWS, Law PYT, To EMW, et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature*. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2334-5.
148. Newman A, Smith D, Ghai RR, Wallace RM, Torchetti MK, Loiacono C, et al. First reported cases of SARS-CoV-2 infection in companion animals - New York, March–April 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69:710-3. doi: 10.15585/mmwr.mm6923e3.
149. Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, Harders F, Oude Munnink BB, Hakze-van der Honing RW, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill*. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005.
150. Cahan E. COVID-19 hits U.S. mink farms after ripping through Europe. *Science Magazine*. 2020 (<https://www.sciencemag.org/news/2020/08/covid-19-hits-us-mink-farms-after-ripping-through-europe>, acessado em 13 de novembro de 2020).
151. Abdel-Moneim AS, Abdelwhab EM. Evidence for SARS-CoV-2 infection of animal hosts. *Pathogens*. 2020;9. doi: 10.3390/pathogens9070529.
152. Exposure of humans or animals to SARS-CoV-2 from wild, livestock, companion and aquatic animals. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020 (<http://www.fao.org/3/ca9959en/ca9959en.pdf>, acessado em 1º de dezembro de 2020).
153. Guidelines to mitigate the impact of the COVID-19 pandemic on livestock production and animal health. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020 (<http://www.fao.org/3/ca9177en/CA9177EN.pdf>, acessado em 1º de dezembro de 2020).
154. Guidance on working with farmed animals of species susceptible to infection with SARS-CoV-2. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2020 (https://www.oie.int/fileadmin/Home/MM/Draft_OIE_Guidance_farmed_animals_cleanMS05.11.pdf, acessado em 8 de dezembro de 2020).
155. El Zowalaty ME, Jarhult JD. From SARS to COVID-19: a previously unknown SARS-related coronavirus (SARS-CoV-2) of pandemic potential infecting humans: call for a One Health approach. *One Health*. 2020;9:100124. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100124.
156. Leroy EM, Ar Gouilh M, Brugere-Picoux J. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a One-Health strategy to control the COVID-19 pandemic. *One Health*. 2020;10:100133. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100133.
157. Guidelines for working with free-ranging wild mammals in the era of the COVID-19 pandemic. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2020 (https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/COV-19/A_WHSG_and_OIE_COVID-19_Guidelines.pdf, acessado em 10 de dezembro de 2020).

Anexo I: Questões-chave a serem consideradas antes de iniciar um programa de sequenciamento

1. Quais são os resultados esperados do programa de sequenciamento?
2. Quais amostras devem ser sequenciadas para atingir os resultados esperados identificados na etapa 1? Quais metadados ou fontes de dados adicionais são críticos?
3. Quem são as principais partes interessadas e quais são suas responsabilidades? Como elas podem estar efetivamente engajadas?
4. Como as amostras e as informações podem ser transferidas de forma rápida e adequada entre as partes interessadas, conforme necessário?
5. O projeto foi elaborado de acordo com as leis e diretrizes éticas locais, nacionais e internacionais?
6. Há financiamento, equipamento e recursos humanos adequados disponíveis para concluir todos os estágios de recuperação de amostras, sequenciamento em laboratório úmido, bioinformática, filodinâmica e outras análises, compartilhamento de dados e comunicação de resultados oportunos para as devidas partes interessadas?
7. Como as metas podem ser alcançadas sem interromper outras áreas do trabalho laboratorial, como o diagnóstico clínico, e evitando a duplicação de esforços?
8. Como o programa será avaliado em relação ao custo-efetividade e ao impacto?

Anexo II: Lista de verificação para o estabelecimento de um programa de sequenciamento do SARS-CoV-2

Meta

- Definir os objetivos esperados do programa de sequenciamento; quais informações o sequenciamento provavelmente fornecerá que serão adicionais ou mais custo-efetivas do que as abordagens existentes?

Identificação e engajamento das partes interessadas

- Identifique as principais partes interessadas.
- Discuta os objetivos do programa com representantes seniores de grupos de partes interessadas e defina as responsabilidades de cada grupo.
- Considere a possibilidade de compartilhar materiais educacionais sobre o potencial e os requisitos do sequenciamento do SARS-CoV-2 com as partes interessadas.
- Identifique os vínculos necessários entre as principais partes interessadas para permitir a movimentação rápida de amostras, a solicitação de informações e o uso dos resultados.
- Certifique-se de que sejam estabelecidos vínculos claros e apropriados entre as partes interessadas.

Considerações técnicas

- Determine o nível de amostragem genômica necessária para atingir os objetivos desejados, em discussão com membros seniores de identificação de casos e equipes analíticas.
- Identifique os metadados necessários para atingir os objetivos desejados, em discussão com membros seniores das equipes analíticas e de identificação de casos.
- Escolha os protocolos apropriados de preparação de amostras e biblioteca.
- Escolha protocolos bioinformáticos apropriados.
- Escolha protocolos analíticos apropriados.

Considerações logísticas

- Pondere onde o sequenciamento e a análise serão realizados (por exemplo, um laboratório de diagnóstico existente ou um laboratório comercial ou acadêmico externo).
- Identifique fontes apropriadas de financiamento que serão adequadas para apoiar o sequenciamento laboratorial, o armazenamento de dados e a análise de dados.
- Certifique-se de que reagentes e recursos computacionais suficientes estejam disponíveis e possam ser obtidos de forma sustentável conforme necessário.
- Certifique-se de que haja recursos humanos suficientes e apropriados para concluir o programa em todas as fases.
- Certifique-se de que a integridade da amostra possa ser mantida em todas as etapas ao longo da pipeline por meio de cadeia de frio ou outras medidas.
- Assegure a coleta e o armazenamento adequados de metadados e a associação correta com amostras biológicas.
- Considere a possível pressão adicional que o sequenciamento exercerá sobre os grupos existentes de resposta de saúde pública e procure maneiras de aliviar essa pressão.
- Para programas de sequenciamento em grande escala, identifique como agilizar o compartilhamento de dados e amostras entre os grupos participantes (por exemplo, a viabilidade de usar uma identificação de amostra única e formatos de metadados idênticos).

Garantir um ambiente seguro e ético

- Conduza análises éticas adequadas para a geração, uso e armazenamento de dados de sequência e metadados associados.
- Realize avaliações de risco das atividades de sequenciamento para garantir a biossegurança apropriada em todos os estágios.
- Realize avaliações de risco das atividades de sequenciamento para garantir biossegurança apropriada, se relevante, de acordo com a legislação nacional e regional.
- Pondere o impacto sobre os recursos humanos, incluindo a realocação de pessoal ou a contratação de pessoal adicional para manter a carga de trabalho individual em níveis razoáveis.
- Certifique-se de que os funcionários possam se deslocar para o trabalho e estar no local de trabalho com segurança e de acordo com as diretrizes nacionais de prevenção da transmissão durante o surto de COVID-19.

- Defina estratégias para manter o programa de sequenciamento se os principais membros da equipe ficarem doentes ou precisarem se isolar.

Compartilhamento de dados

- Certifique-se de que todas as partes interessadas estejam de acordo sobre quais sequências e metadados serão compartilhados publicamente, por meio de quais plataformas e quando.
- Certifique-se de que todas as partes interessadas estejam de acordo quanto à possibilidade de qualquer metadado ser restrito a um número limitado de usuários locais e elabore estratégias para compartilhar esses dados com segurança.
- Garanta que o compartilhamento de dados esteja em conformidade com as estruturas regulatórias nacionais e internacionais.

Avaliação

- Garanta oportunidades regulares para avaliar o programa de sequenciamento, incluindo sucessos e dificuldades contínuas.
- Garanta que uma estrutura de monitoramento e avaliação seja implementada para avaliar o desempenho do programa de sequenciamento, tanto tecnicamente (qualidade etc.) quanto em termos de sucesso do programa no cumprimento de seus objetivos.

Anexo III: Plataformas comumente usadas para análise de sequenciamento do SARS-CoV-2 e suas características

Instrumento ^a	Vantagens	Limitações	Tempo de execução do instrumento	Taxa de transferência de sequenciamento	Comparação de custo relativo
Sequenciamento Sanger	Amplamente acessível Fácil de usar Sequenciamento com boa relação custo-efetividade, se forem necessárias poucas metas	Taxa de transferência muito baixa Amplicons (com frequência não mais do que 1.000 bp) devem ser amplificados e sequenciados individualmente Dispendioso para genomas completos Inadequado para metagenômica	Normalmente algumas horas	100 kB-2 Mb por execução única	Custo relativamente baixo para algumas metas
Illumina (por exemplo, iSeq, MiniSeq, MiSeq, NextSeq, HiSeq, NovaSeq)	Possibilidade de rendimentos de sequenciamento muito altos Precisão muito alta iSeq é portátil Os métodos de tratamento de dados estão bem estabelecidos	Com exceção da Illumina iSeq, compra e manutenção caras em comparação com algumas outras plataformas Comprimento máximo de leitura 2 x 300 bp	10-55 h, dependendo do instrumento	1,2-6000 Gb, dependendo do instrumento	Altos custos de manutenção e inicialização Custos de funcionamento moderados
Oxford Nanopore Technologies (Flongle, MiniION, GridION, PromethION)	Sequenciamento direto e portátil Dados em tempo real Custos de inicialização e manutenção baixos Pode interromper o sequenciamento assim que dados suficientes forem obtidos Comprimentos de leitura muito longos alcançáveis (excedendo o comprimento total do genoma do SARS-CoV-2)	Desafios com homopolímeros A taxa de erro por leitura é de ~ 5% (células de fluxo R9.4), então o uso de pipelines apropriados é fundamental para obter sequências de consenso de alta precisão Atualmente inadequado para determinar a variação intra-hospedeiro, a menos que seja usado sequenciamento replicado (52)	Leituras disponíveis imediatamente Pode ser monitorado e executado por até vários dias, conforme necessário	Varia de <2 Gb para célula de fluxo Flongle a 220 Gb para célula de fluxo PromethION Até 48 células de fluxo podem ser usadas no PromethION	Sem manutenção, e custos iniciais relativamente baixos Custos de funcionamento moderados
Ion Torrent	Resposta rápida uma vez que o sequenciamento começa	Desafios com homopolímeros Caros para compra Comprimentos máximos de leitura típicos em torno de 400 bp	2 h – 1 dia, dependendo do chip e dispositivo	30 Mb – 50 Gb dependendo do dispositivo e chips	Custos moderados

^a Esta lista dos vários instrumentos é para fornecer uma visão geral das ferramentas mais comumente usadas para o sequenciamento genômico do SARS-CoV-2 e não implica o endosso da OMS para esses produtos.

^b Diferentes estimativas de custo podem ser encontradas em (8).

A OMS continua monitorando a situação de perto em busca de quaisquer alterações que possam afetar esta orientação provisória. Se algum fator mudar, a OMS publicará uma nova atualização. Caso contrário, este documento de orientação provisório expirará dois anos após a data de publicação.

© Organização Pan-Americana da Saúde 2021.

Alguns direitos reservados. Esta obra está disponível sob a licença [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

Número de referência: OPAS-W/BRA/PHE/COVID-19/21-0015