



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

PROCEDIMENTOS OBRIGATÓRIOS PARA O SEQUENCIAMENTO DE ARBOVÍRUS NA REDE NACIONAL DE SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

BRASÍLIA-DF
Maio/2023

ELABORADO POR:	AVALIADO POR:	APROVADO POR:	DATA e REVISÃO:
Núcleo de Vigilância Genômica		XXXXXX	00/00/2023 – Rev. 1



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

VERSÃO I

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (SVSA)
Departamento de Articulação Estratégica em Vigilância em Saúde e Ambiente –
DAEVS
Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB)
Edifício PO700 – Quadra 701 – Lote D – 3º andar – Asa Norte CEP: 70.719-040,
Brasília/DF
Site: www.saude.gov.br

Coordenadora-Geral:
Helena Cristina Ferreira Franz

Equipe Técnica:
Anne Aline Pereira de Paiva
Daniel Ferreira de Lima Neto
Doglas Parise
Gabriel Joventino do Nascimento
Geovani de Oliveira Ribeiro
Layssa Miranda de Oliveira Portela
Rodrigo Bentes Kato
Ronaldo de Jesus

Revisão:
Ana Cecília Ribeiro Cruz
Fernanda Bruycker
Livia Medeiros Neves Casseb
Rafael Franca



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

1. OBJETIVO

Padronização dos dados a serem adotados pela Rede Nacional de Sequenciamento Genético (RNSG) e o estabelecimento de fluxo de envio dos resultados do sequenciamento de arbovirose.

2. APLICAÇÃO

Tendo em vista a implementação da técnica do sequenciamento genômico para arbovírus de interesse (vírus Dengue (DENV), vírus Zika (ZIKV), vírus Chikungunya (CHIKV), do sequenciamento genético nos Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN) do Brasil, este documento visa orientar os profissionais dos LACEN para a padronização dos arquivos, dados e resultados, assim como o fluxo de envio de dados para a CGLAB/DAEVS/SVSA/MS.

3. PROCEDIMENTO

3.1. Antes do sequenciamento

Inicialmente deve ser feita uma lista das amostras que serão processadas com insumos e equipamentos disponibilizados nos laboratórios pela CGLAB, dentro do formulário padrão (ANEXO II -



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

Exemplo de Relatório de Sequenciamento), posteriormente deve ser enviado para cglab.informacao@saude.gov.br e anne.paiva@saude.gov.br. Esta medida objetiva evitar o desperdício de insumos, **com a utilização de flow cells com menos de sua capacidade máxima, pois não haverá reposição de insumos desperdiçados**

O uso de insumos e/ou metodologia não adquiridos pela CGLAB, devem ser apresentados de forma detalhada para avaliação da equipe técnica em forma de relatório, o qual deve conter minimamente as seguintes informações: (i) Kit utilizado para extração de RNA, análise de qualidade do RNA, preparação da biblioteca e tipo de *flow cell*; (ii) Profundidade de leitura dos fragmentos obtidos, incluindo o tamanho.

A CGLAB recomenda fortemente que todos os insumos e equipamentos sejam utilizados em sua capacidade máxima de utilização para otimização dos recursos públicos disponibilizados pela CGLAB/DAEVS/SVSA/MS, para esta ação.

3.2. Envio dos dados para a CGLAB

O envio de dados para a CGLAB deverá ser sinalizado através de um e-mail enviado para cglab.informacao@saude.gov.br e anne.paiva@saude.gov.br, informando o envio dos dados para o google drive. Ressaltando que somente após o envio do e-mail, o envio dos dados será considerado válido pela equipe de sequenciamento.

Dados a serem enviados para a CGLAB:

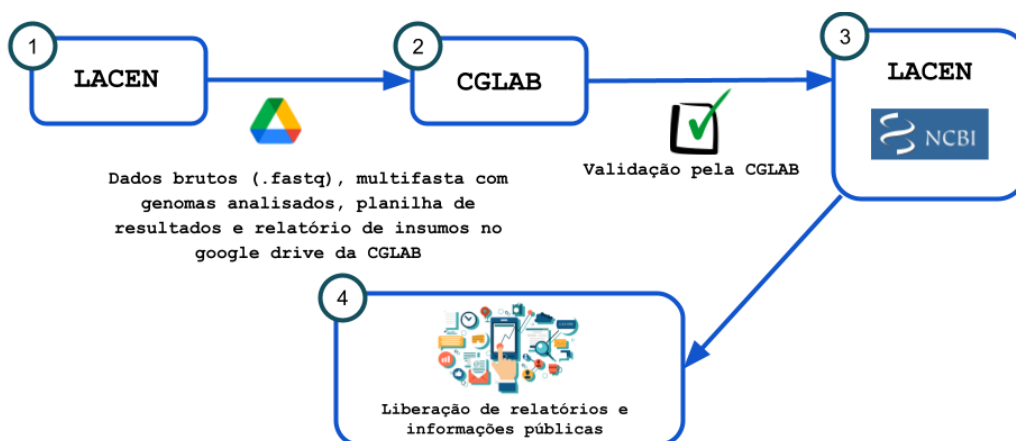
- Através do google drive: Dados brutos (.fastq), multifasta com os genomas analisados, planilha de resultados, relatório de insumos, relatório de sequenciamento e planilha de metadados.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

- Após aprovação e liberação pela CGLAB: Disponibilizar os arquivos **.fasta** de ARBOVIROSES no NCBI¹.

Os dados brutos (.fastq) bem como o multifasta com os genomas analisados, planilha de resultados, relatórios do sequenciamento e relatório de insumos deverão ser encaminhados para a CGLAB via google drive. Na etapa de validação a CGLAB verificará os resultados do sequenciamento e pode solicitar mudanças em qualquer um dos documentos ou dados enviados. Após esta validação, os LACEN deverão submeter as sequências no NCBI e posteriormente realizar a liberação dos relatórios para o público e gestores (Figura 1).



[OBJ]

Figura 1: Fluxo de envio de dados para a CGLAB.

3.3. Envio através do Google Drive

Os dados brutos (.fastq), arquivo multifasta com os genomas analisados (.fasta), planilha de resultados, relatório de sequenciamento e relatório de insumos deverão ser disponibilizados via Google Drive na pasta referente de cada estado. Para acessar a pasta do google drive é necessário clicar no link correspondente do estado, conforme tabela abaixo:

¹ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

PASTA	LINK
CGLAB_SEQ_AM	https://drive.google.com/drive/folders/1IbJaCp5aX6v0hcKd5Ka7YQDKZf0baMfn?usp=sharing
CGLAB_SEQ_CE	https://drive.google.com/drive/folders/1wqgxXenugtVU2TGNqtO7c2SAMpxZWylw?usp=sharing
CGLAB_SEQ_GO	https://drive.google.com/drive/folders/1hO689jPWafTH6XRmVuaDrL_xAhGXjJyg?usp=sharing
CGLAB_SEQ_MG	https://drive.google.com/drive/folders/1yI6um-w2D4H3kKTYtX17MHWSLLHW_W2i?usp=sharing
CGLAB_SEQ_PR	https://drive.google.com/drive/folders/1_wmn5dd4c2FGLwWdl6reZUi8uzkFfHk2?usp=sharing
CGLAB_SEQ_SP	https://drive.google.com/drive/folders/1uV6mSrKZMpYcz1EwaJQEIHWtiBDEv_dW?usp=share_link

Ao acessar pela primeira vez, é necessário clicar em solicitar acesso. Após ter solicitado acesso, é imprescindível o envio de um email para cglab.informacao@saude.gov.br informando que a solicitação foi feita, qual o email utilizado e qual o Lacen solicitante.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

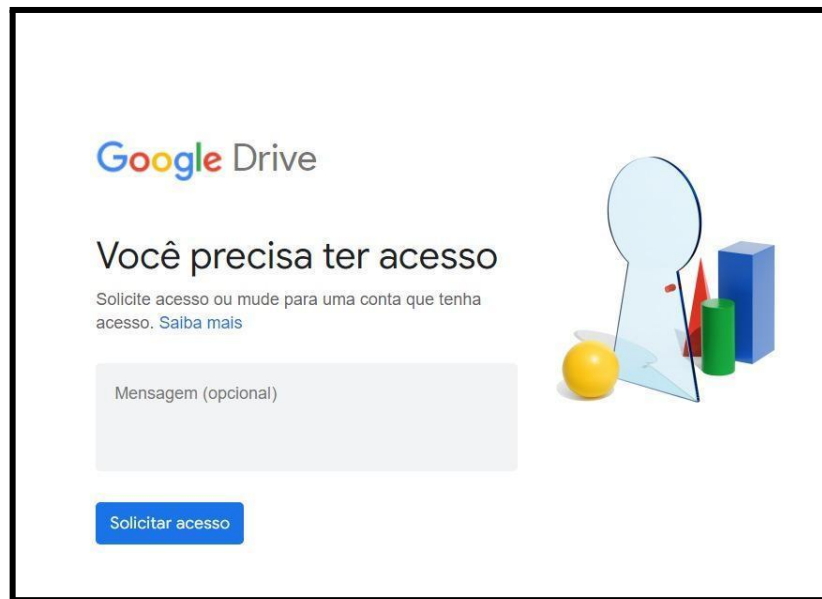


Figura 3: Solicitação de acesso ao drive.

Uma vez autorizado o acesso à pasta é necessário que cada estado coloque os dados de sequenciamento dentro da pasta correspondente ao vírus sequenciado, conforme Figura 4, e depois organizar os dados por data de sequenciamento, como pode ser visto na Figura 5.

Shared with me > TREINAMENTO RNSG- CGL... > FTP_LACEN > CGLAB_SEQ_MG ▾



Name	Owner	Last modifi...	↓	File size
 Arbovirose	cglab informacao	Oct 17, 2022		—
 SARS-CoV-2	cglab informacao	Oct 17, 2022		—

Figura 4: Solicitação de acesso ao drive.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

... > CGLAB_SEQ_MG > Arbovirose ▾

Nome ↓	Proprietário
 MiSeq_24012023_COVIDSeq_Arbo	Natalia Guimaraes

Figura 5: Organização dos dados de sequenciamento no drive.

Observação: como se trata do Google Drive, o mesmo utiliza o espaço de armazenamento de quem está enviando os dados. Por isso é imprescindível que a conta utilizada tenha o espaço necessário ou realizar a criação de uma nova conta.

3.3.1 Planilha de resultados

A planilha de resultados deve ser enviada em formato .xlsx e deve conter os seguintes campos:

- Barcode
- No. do Barcode
- Assignment
- Contigs
- Reads
- Coverage
- Depth of Coverage
- ID_Sequencia
- ID_Amostra
- LACEN
- CT
- Genótipo

O preenchimento do campo ID_Sequencia será apresentado na sessão “3.4.1.1 Padronização do nome do arquivo de dados sequenciados”.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

3.3.1.1 Padronização do nome do arquivo de dados sequenciados no banco de dados público

O nome da sequência (campos do NCBI que devem conter esse nome: Sequence_ID, strain e isolate) para ser inserida no NCBI e enviada pelo drive deve ser padronizado da seguinte forma:

Vírus/País/UF requisitante - LACENUF - Código do Amostra/Ano

Por exemplo, uma amostra de Chikungunya, que foi sequenciada no LACEN-AC no ano de 2023, de um paciente residente em Salvador-BA e o código da amostra é 2349877, o nome do arquivo dos brutos da sequência seria:

CHIKV/Brazil/BA-LACENAC-2349877/2023
Vírus País UF LACEN UF Código Amostra Ano

Para as árvores filogenéticas utilizar o nome abreviado:

UF Requisitante _ LACEN UF _ Código do Amostra

BA_LACENAC_2349877
UF Código de acesso

Obs: A UF Requisitante deve ser retirada do campo da Requisição que é preenchida na solicitação de exames do GAL.

3.4 Relatório de insumos

O relatório deve conter os seguintes tópicos a respeito da presente rodada:



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

- Laboratório
- Data
- Descrição da corrida de sequenciamento contendo: identificação do sequenciador, kit, capacidade máxima do chip/flow cell de sequenciamento utilizado e lote.
- Justificativa do uso dos flow cell/chips de sequenciamento com a quantidade de amostras sequenciadas. Caso não haja o uso completo do chip/flow cell, justificar o motivo do desperdício.
- Tabela com os seguintes campos para cada uma das amostras sequenciadas: Número do Lote, Número FC, Nome da sequência.

Um exemplo de relatório de insumos pode ser visto no **Anexo I**. Na Figura 7 pode ser visto o número do lote e número FC no kit MiSeq Reagent Kit V3.

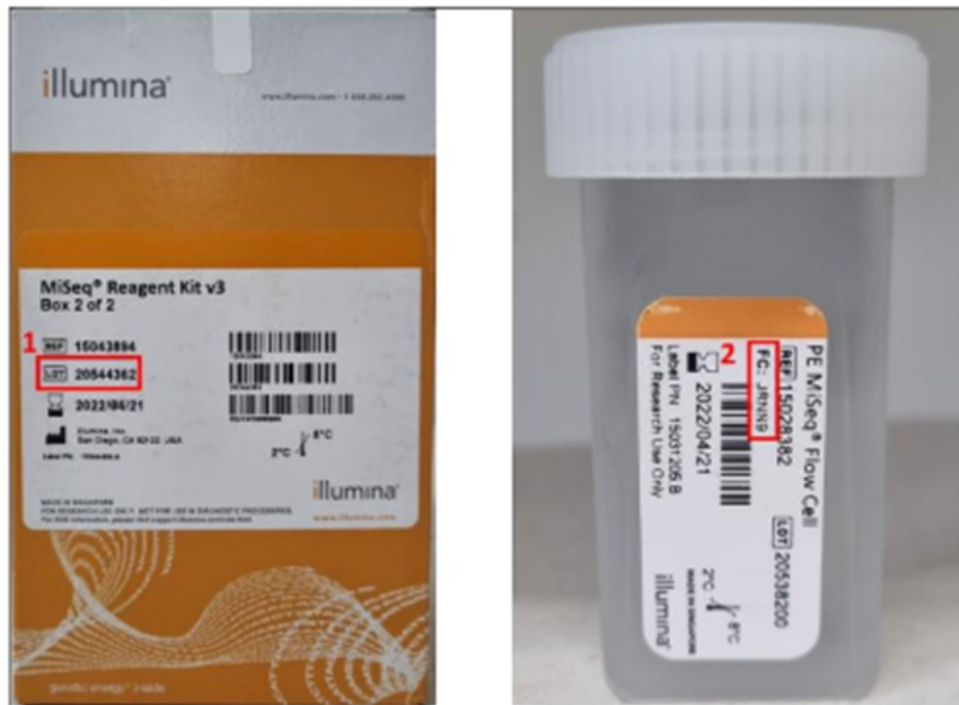


Figura 7: Número do lote e número FC destacados em vermelho.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

3.5 Relatório de Sequenciamento

O Relatório deverá conter as seguintes seções a respeito da presente rodada:

- Distribuição geográfica no estado
- Análise filogenética
- Descrição dos genótipos

Um exemplo de Relatório de sequenciamento pode ser encontrado no **Anexo II**.

3.6 Planilha de metadados de arboviroses

Preencher e enviar a planilha de metadados de arboviroses com os seguintes dados:

- Vírus
- UF-LACEN
- LAB ID Extração
- Requisição GAL
- Nome do paciente
- Gênero
- Idade
- UF-Residência
- Cidade-Residência
- Bairro
- Área Urbana/Rural
- Data de Coleta
- Data de início dos sintomas
- Sintomas
- CT



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

Um exemplo de Relatório de sequenciamento pode ser encontrado no **Anexo III**.

4. Critério de Seleção das amostras a serem sequenciadas

Para a saúde pública, o sequenciamento genético das arboviroses urbanas (DENV, CHIKV e ZIKV), aliado a outros estudos, possibilitam determinar sobre os genótipos circulantes e/ou reintroduzidos em território brasileiro, sugerir se as mutações identificadas podem influenciar potencialmente na patogenicidade, transmissibilidade, e se apresentam capacidade para alterar o perfil clínico e epidemiológico conhecido, além de nortear possíveis ações de controle vetorial, direcionar medidas diagnósticas e permitir a manutenção da vigilância virológica no país.

Para o sequenciamento genômico completo, deverão ser selecionadas amostras positivas para arboviroses urbanas (DENV, CHIKV, ZIKV)):

- Amostras de pacientes com valor de CT \leq 30, **E**
- Amostras de pacientes que apresentaram sinais/sintomas neurológicos; **OU**
- Amostras de pacientes que apresentaram clínica diferenciada (sinais/sintomas de gravidade);

Além disso, a CGLAB/DAEVS/SVSA/MS requer que cada corrida de sequenciamento seja acompanhada de um controle negativo da reação de sequenciamento.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

ANEXO I - Exemplo de Relatório de Insumos

Laboratório: LACEN-MG (FUNED)

Data: 24/01/2023

Sequenciador: MiSeq

Para a rodada de sequenciamento denominada “Funed_COVIDSeq_arbovírus_24012023” foi utilizada uma *flow cell* com capacidade total para 96 amostras (MS-102-2002/MiSeq Reagent Kit v2 - 300-cycles) de lote 20690835.

Esta rodada de sequenciamento foi realizada utilizando 95 amostras de arbovírus (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4, ZIKV e CHIKV) e 01 controle negativo (CN), sendo gerados 82 genomas (cobertura $\geq 60\%$ em relação ao genoma de referência). As amostras sequenciadas estão dentro dos critérios de seleção de amostras para sequenciamento genético de arbovírus, conforme descrito no OFÍCIO Nº 16/2023/CGLAB/DAEVS/SVSA/MS.

Das 95 amostras sequenciadas, não foi possível obter genomas virais de 13 (10 de DENV-1 e três de DENV-2), devido problemas no selante da placa de qPCR, o que ocasionou a evaporação parcial dessas amostras (Tabela 1, amostras destacadas em vermelho).

O sequenciamento foi realizado no Instituto Evandro Chagas (IEC) durante o “**1º Treinamento para preparo de biblioteca genômica e sequenciamento de arboviroses urbanas**” ministrado pela equipe da Funed, juntamente com as equipes do IEC e da CGLAB. O preparo da biblioteca foi realizado utilizando o kit COVIDSEQ e o Reagent Kit v2 (300-cycles), seguindo o protocolo padronizado pela Funed. Além disso, por se tratar de um **treinamento**, e pela indisponibilidade de amostras biológicas com resultados de RT-PCR detectáveis para DENV-3,



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

DENV-4 e ZIKV, nesse sequenciamento, para esses vírus, foram utilizados isolados virais.

Tabela 1 - Detalhamento das amostras sequenciadas.

Número do lote	Número REF	Nome da sequência	Número do Gal de Biologia médica
20690835	KJMF2	CN	CN
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349877/2023	220405003252
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349878/2023	220405003253
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349879/2023	220405003215
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-234988/2023	220405003163
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349811/2023	220405003171
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-234982/2023	220405003167
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349873/2023	220405003191
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349874/2023	220405003232
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349875/2023	220405003200
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349852/2023	220405003214
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349823/2023	220405003218
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349845/2023	220405003440
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349845/2023	220204005394
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349878/2023	220405003540
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349878/2023	220405003585
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349878/2023	220405003589
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349879/2023	220405003489
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349872/2023	220405003516
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349878/2023	220405003531
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349802/2023	220405003456
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-234980/2023	220405003468
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-234988/2023	220405003641
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349868/2023	220405003333
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349815/2023	220405003352
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349813/2023	220405003387
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349812/2023	220402002256
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349810/2023	220204005447
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349878/2023	220211006271
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349808/2023	220405003688
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349882/2023	220405003708
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349832/2023	220405003711
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349854/2023	220405003741
20690835	KJMF2	CHIKV/Brazil/MG-LACENMG-2349846/2023	220405003744



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

ANEXO II - Exemplo de Relatório de Sequenciamento

Relatório técnico referente ao sequenciamento genômico de arbovírus realizado no Instituto Evandro Chagas (IEC)

No período de 23 a 27 de janeiro de 2023, durante o “1º **Treinamento de sequenciamento genético para as arboviroses urbanas**”, a equipe da Funed (Lacen-MG) realizou o sequenciamento de 95 amostras positivas para arbovírus, sendo 71 amostras do vírus chikungunya (CHIKV), 18 amostras do vírus dengue sorotipo 1 (DENV-1), 03 amostras do vírus dengue sorotipo 2 (DENV-2), 01 isolado viral do vírus dengue sorotipo 3 (DENV-3), 01 isolado viral do vírus dengue sorotipo 4 (DENV-4) e 01 isolado viral do vírus zika, no Instituto Evandro Chagas (IEC).

O sequenciamento foi realizado com conjuntos de iniciadores específicos para cada arbovírus, desenvolvidos pelo *Centre for Arbovirus: Discovery, Diagnosis, Genomics and Epidemiology* (CADDE) (<https://www.caddecentre.org/protocols/>). Os genomas foram sequenciados na



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

plataforma MiSeq (Illumina) utilizando o kit de preparo de biblioteca Illumina COVIDSeq Assay e o MiSeq Reagent Kit v2 (300 cycles).

Os genomas foram montados por referência utilizando o *pipeline* ViralUnity (<https://github.com/filiperomero2/ViralUnity>) que tem como dependências os seguintes softwares: fastqc (v0.11.9), multiqc (v1.9), trimmomatic (v0.39), bowtie2 (v2.4.2), samtools (v1.11), bcftools (v1.11) e bedtools (v2.30.0). Após a montagem, os genomas foram classificados em relação ao sorotipo/clado para cada vírus utilizando a ferramenta online Genome Detective - Typing Tool (Faria *et al.*, 2018; Fonseca *et al.*, 2019), e a identificação confirmada por análises filogenéticas geradas no software IQ-TREE versão 1.6.12.

Das 95 amostras sequenciadas, não foi possível obter genomas virais de 13 amostras (10 de DENV-1 e três de DENV-2) devido problemas no selante da placa de qPCR, o que ocasionou a evaporação parcial dessas amostras (Tabela 3, amostras destacadas em vermelho).

Vírus dengue, sorotipo 1 (DENV-1)

As amostras de DENV-1 sequenciadas e que tiveram genoma gerado (n=8, cobertura mínima de 60% em relação ao genoma de referência) são provenientes de 8 municípios (município solicitante) (**Tabela 1**) e 5 mesorregiões do estado de Minas Gerais (**Figura 1**). As amostras (n=8) foram coletadas entre setembro de 2022 e janeiro de 2023 e apresentaram valor de CT variando de 22 a 30 (média = 26,5).

Tabela 1 – Municípios que tiveram genomas gerados de DENV-1.

Município Solicitante	Mesorregião Minas Gerais	Número de genomas gerados por município	Genótipo
Nanuque	Vale do Mucuri	1	V
Almenara	Jequitinhonha	1	V



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

Montes Claros	Norte de Minas	1	V
Barão de Monte alto	Zona da Mata	1	V
Carlos Chagas	Vale do Mucuri	1	V
Douradoquara	Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba	1	V
Uberaba	Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba	1	V
Água comprida	Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba	1	V

Números de genomas gerados de DENV-1 por mesorregião

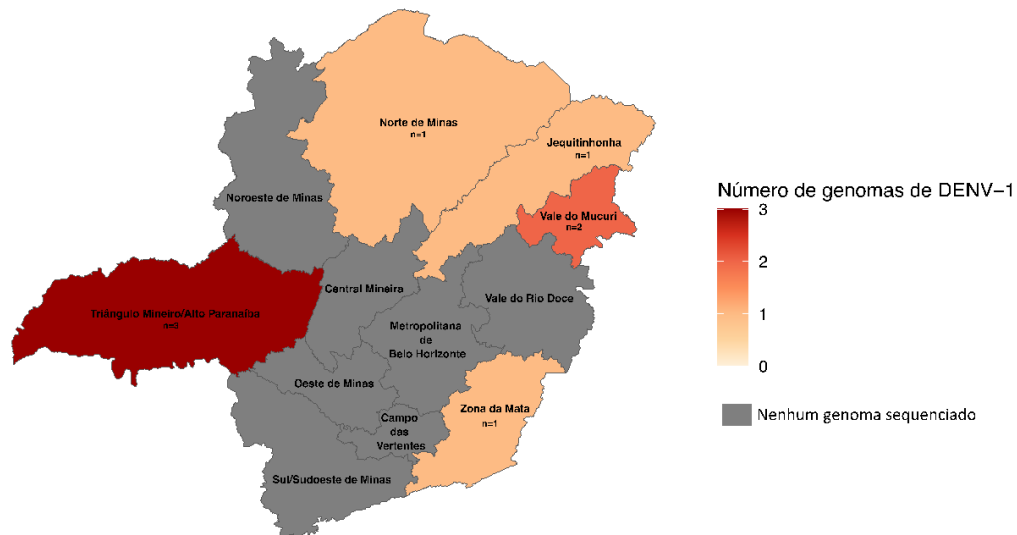
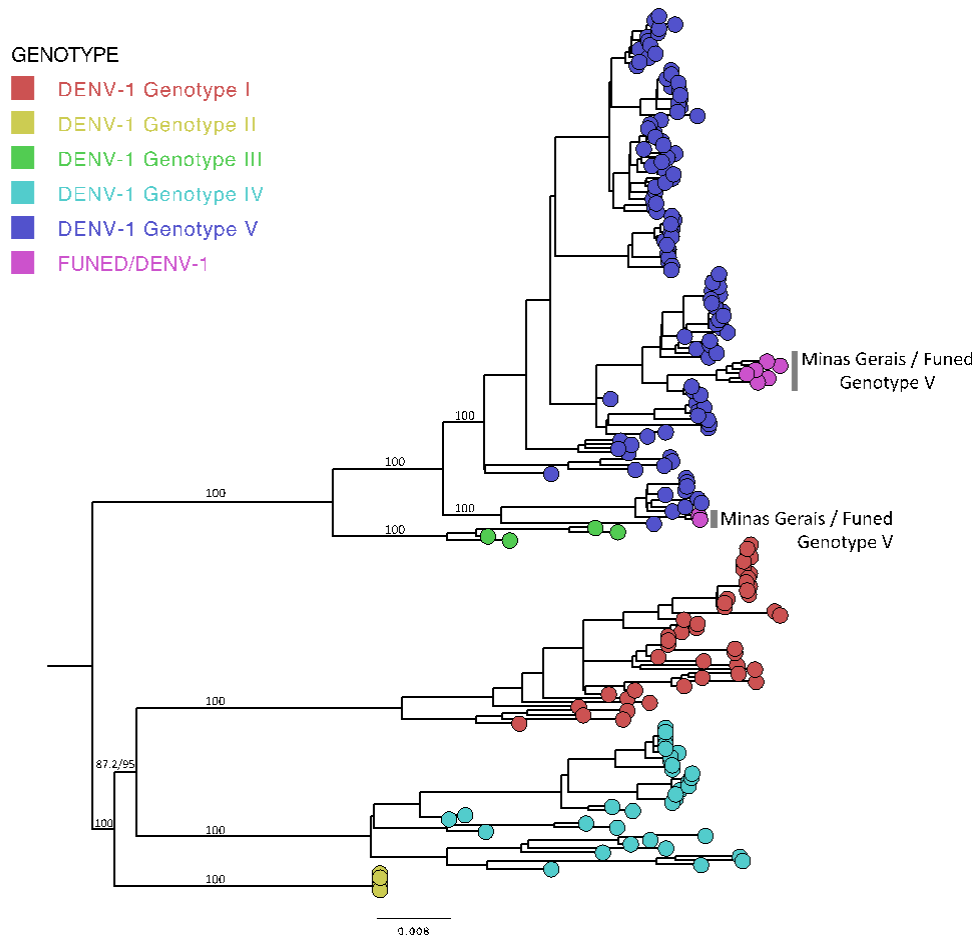


Figura 1. Mapa do estado de Minas Gerais destacando o número de genomas de vírus dengue sorotipo 1, genótipo V (DENV-1) gerados por mesorregião de Minas Gerais.

Os genomas obtidos apresentaram cobertura entre 66,77% e 80,79% (média = 73,33%) em relação ao genoma de referência e profundidade média de 3.528,6 X (**Tabela 3**). Dez amostras não geraram dados suficientes para obtenção do genoma com no mínimo 60% de cobertura e foram excluídas do conjunto de



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA



dados (Número de requisição: 230702000038, 220702009487, 220407003619, 220403004913, 220405003497, 220403005056, 220702010185, 220403005145, 220403005156 e 230405000098).

Por meio da utilização do Genome Detective - Dengue Typing Tool, todos os genomas gerados foram classificados como vírus dengue sorotipo 1, genótipo V. Na árvore filogenética as amostras sequenciadas se agruparam com genomas pertencentes a vírus dengue sorotipo 1, genótipo V, confirmando o resultado obtido por meio da utilização do Genome Detective (**Figura 2**).



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

Figura 2. Reconstrução filogenética das sequências genômicas de vírus dengue sorotipo 1, genótipo V, isoladas em Minas Gerais (Funed/DENV-1) e das sequências de referência presentes no banco de dados do NCBI. Árvore gerada utilizando o software IQ-TREE versão 1.6.12. Cores distintas foram atribuídas para cada genótipo de DENV-1.

Vírus dengue, sorotipo 2

As amostras de DENV-2 sequenciadas (n=3) foram provenientes de Araporã (município solicitante), Minas Gerais, coletadas em dezembro de 2022, e apresentavam CT entre 20 e 28 (média=23,33). Os genomas obtidos apresentaram cobertura entre 18,2% e 59,2% (abaixo de 60% em relação ao genoma de referência), e por isso foram excluídos do conjunto de dados (**Tabela 3**).

Vírus dengue, sorotipos 3 e 4

Por se tratar de um treinamento, e pela indisponibilidade de amostras biológicas com resultados de RT-PCR detectáveis para DENV-3 e DENV-4, utilizamos isolados virais para o sequenciamento.

Os isolados virais foram obtidos a partir da inoculação dos vírus dengue, sorotipos 3 e 4, em células de mosquito *Aedes albopictus* - clone C6/36, cultivadas em meio L-15 acrescido de 5% de soro fetal bovino, incubadas em temperatura ambiente (18-28°C), por aproximadamente 10 dias.

Os isolados virais de DENV-3 e DENV-4 apresentaram valores de CT de 30 e 17, respectivamente. O genoma de DENV-3 gerado apresentou cobertura de



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

86,29% em relação ao genoma de referência, 210,9 X de profundidade, e foi classificado como vírus dengue sorotipo 3, genótipo III. O genoma de DENV-4, apresentou cobertura de 85,51%, profundidade de 1.812 X, e foi classificado como vírus dengue sorotipo 4, genótipo II (**Tabela 3**).

Vírus chikungunya

As amostras de CHIKV sequenciadas e que tiveram genoma gerado (n=71) são provenientes de 8 municípios (município solicitante) (**Tabela 2**) e 3 mesorregiões do estado de Minas Gerais (**Figura 3**).

Números de genomas gerados de CHIKV por mesorregião

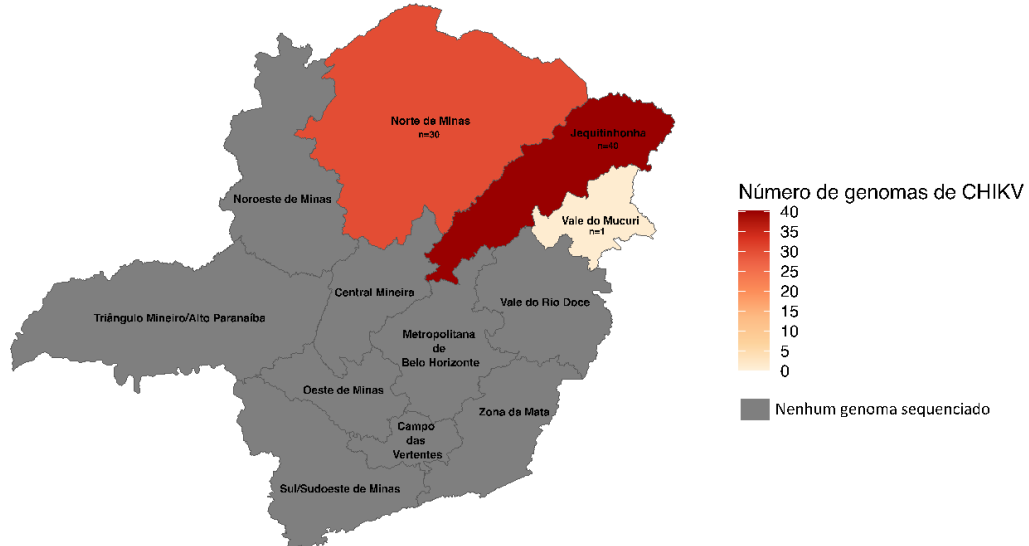


Figura 3. Mapa do estado de Minas Gerais destacando o número de genomas do vírus chikungunya gerados por mesorregião de Minas Gerais.

As amostras selecionadas apresentaram valores de CT que variaram entre 14 e 28 (média CT = 19,79) e foram coletadas entre novembro de 2022 e janeiro de 2023. Os genomas obtidos apresentaram cobertura entre 93,92% e 96,35% (média = 95,58%) em relação ao genoma de referência e profundidade média de 4.391 X



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

(**Tabela 3**). Por meio da utilização do Genome Detective - Chikungunya Typing Tool, todos os genomas sequenciados foram classificados como vírus chikungunya e agrupados no clado *East-Central-South-African* (ECSA) (**Figura 4**). Na árvore filogenética as amostras sequenciadas se agruparam com genomas pertencentes ao clado ECSA, confirmando o resultado obtido por meio da utilização do Genome Detective (**Figura 4**).



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

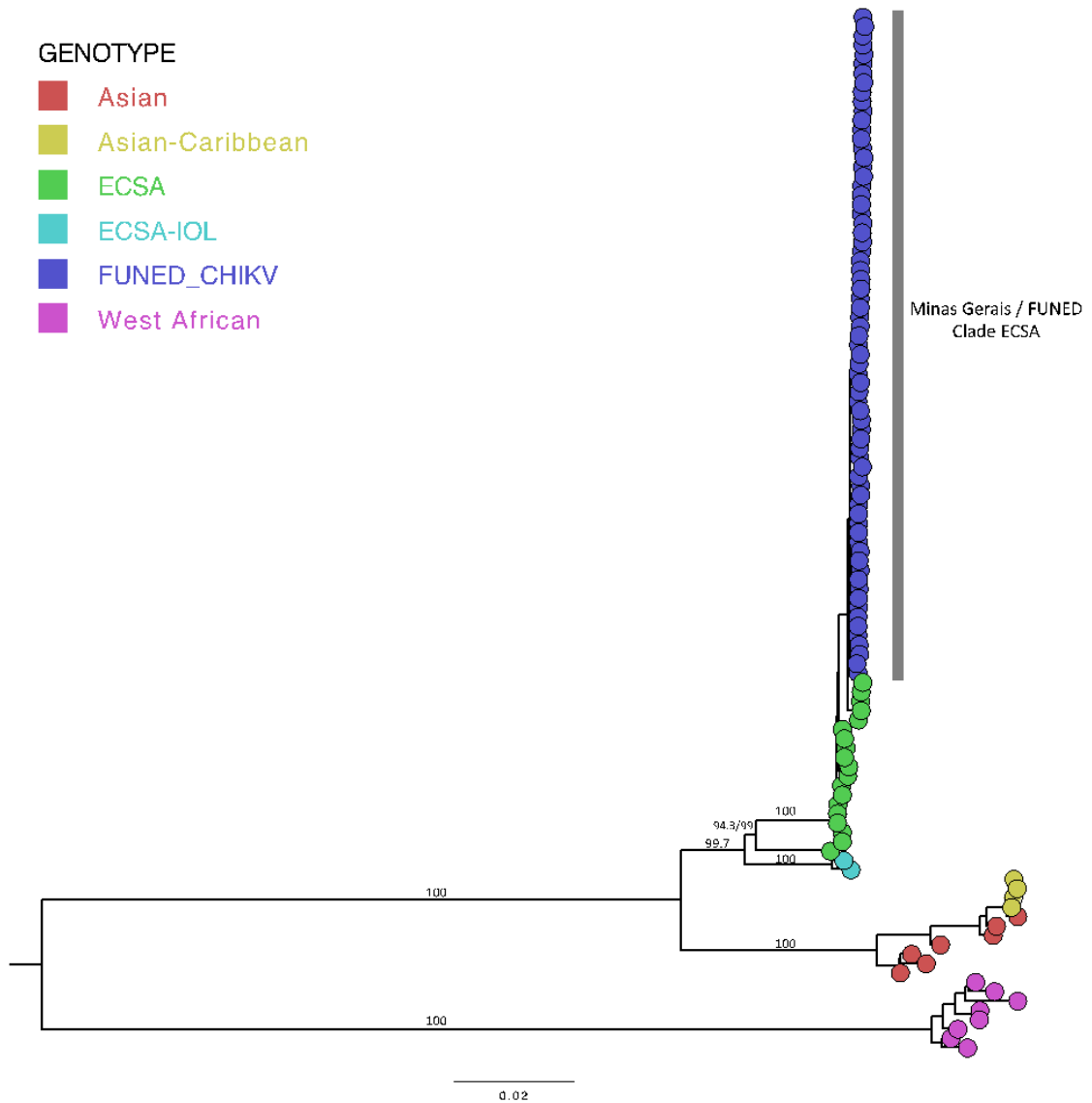


Figura 4. Reconstrução filogenética das sequências genômicas de vírus chikungunya - *East-Central-South-African* isoladas em Minas Gerais (Funed_CHIKV) e das sequências de referência presentes no banco de dados do NCBI. Árvore gerada utilizando o software IQ-TREE versão 1.6.12. Cores distintas foram atribuídas para cada genótipo de CHIKV.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

Tabela 2 - Municípios que tiveram genomas gerados de CHIKV.

Município Solicitante	Mesorregião Minas Gerais	Número de genomas gerados por município	Genótipo
Almenara	Jequitinhonha	35	ECSA
Divisópolis	Jequitinhonha	1	ECSA
Itaobim	Jequitinhonha	1	ECSA
Jacinto	Jequitinhonha	3	ECSA
Januária	Norte de Minas	25	ECSA
Mirabela	Norte de Minas	1	ECSA
Montes Claros	Norte de Minas	4	ECSA
Teófilo Otoni	Vale do Mucuri	1	ECSA

Vírus zika

Assim como para os vírus dengue sorotipos 3 e 4, utilizamos isolados virais de ZIKV para sequenciamento. Os isolados virais de ZIKV foram obtidos conforme mencionado previamente para os vírus DENV-3 e DENV4.

O isolado viral de ZIKV apresentou valor de CT de 16 e cobertura de 92,33% em relação ao genoma de referência e profundidade média de 3.014,36X (**Tabela 3**).



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

Tabela 3. Lista das amostras de Minas Gerais sequenciadas no IEC

ID Amostra	ID GAL	CT	Tipo Amostra	Município residência	Início Sintomas	Data Coleta	Idade	Sexo	Reads	Cobertura da região codificante	Profundidade de Cobertura	Sorotipo, Genótipo e/ou clado
311341709	220405003252	17	Soro	ALMENARA	01/12/2022	02/12/2022	45	F	768123	95,73%	7183,12	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311341713	220405003253	24	Soro	ALMENARA	01/12/2022	02/12/2022	21	F	572681	95,72%	5389,34	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311340267	220405003215	18	Soro	ALMENARA	28/11/2022	30/11/2022	74	F	243156	95,72%	2253,63	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311339179	220405003163	26	Soro	ALMENARA	21/11/2022	24/11/2022	78	F	764326	96,05%	7174,16	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311339216	220405003171	19	Soro	ALMENARA	27/11/2022	28/11/2022	70	F	420393	95,66%	3991,36	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311339197	220405003167	20	Soro	ALMENARA	27/11/2022	29/11/2022	67	M	351766	94,43%	3299,65	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311339496	220405003191	20	Soro	ALMENARA	21/11/2022	23/11/2022	49	F	462842	95,02%	4335,96	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311340433	220405003232	18	Soro	ALMENARA	29/11/2022	01/12/2022	70	F	662355	95,55%	6176,1	Vírus chikungunya – East-Central-South-African



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

311339539	220405003200	19	Soro	ALMENARA	28/11/2022	29/11/2022	84	F	868345	95,74%	8086,84	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311340266	220405003214	22	Soro	ALMENARA	28/11/2022	30/11/2022	41	M	526046	95,72%	4915,79	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311340277	220405003218	18	Soro	ALMENARA	28/11/2022	30/11/2022	56	M	580716	95,74%	5470,06	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311345831	220405003440	20	Soro	DIVISOPOLIS	11/12/2022	12/12/2022	46	M	392573	95,72%	3660,65	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311349662	220204005394	19	Soro	MONTES CLAROS	17/12/2022	19/12/2022	43	F	415599	95,72%	3927,52	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311348926	220405003540	17	Soro	ALMENARA	13/12/2022	15/12/2022	41	M	439994	95,74%	4157,14	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311349180	220405003585	21	Soro	ALMENARA	14/12/2022	16/12/2022	36	F	406828	95,67%	3808,91	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311349191	220405003589	23	Soro	ALMENARA	15/12/2022	16/12/2022	22	M	465716	95,13%	4379,63	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311347882	220405003489	22	Soro	ALMENARA	14/12/2022	14/12/2022	79	F	293852	95,70%	2711,25	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311348172	220405003516	15	Soro	ALMENARA	11/12/2022	13/12/2022	70	F	354728	95,72%	3306,96	Vírus chikungunya – East-Central-South-African



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

311348390	220405003531	15	Soro	ALMENARA	09/12/2022	12/12/2022	71	M	564794	95,73%	5321,67	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311347753	220405003456	22	Soro	ALMENARA	12/12/2022	14/12/2022	16	F	512436	96,35%	4826,53	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311347805	220405003468	22	Soro	ALMENARA	09/12/2022	14/12/2022	81	F	403373	96,34%	3756,31	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311349956	220405003641	16	Soro	ALMENARA	17/12/2022	19/12/2022	59	M	279324	95,72%	2609,35	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311344408	220405003333	24	Soro	ALMENARA	03/12/2022	07/12/2022	92	F	574813	95,49%	5430,5	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311344463	220405003352	17	Soro	ALMENARA	07/12/2022	08/12/2022	44	F	372671	95,70%	3438,64	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311344647	220405003387	17	Soro	ALMENARA	08/12/2022	09/12/2022	15	M	985111	95,91%	9190,69	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311348514	220402002256	17	Soro	CARLOS CHAGAS	13/12/2022	15/12/2022	30	F	872836	95,74%	8099,72	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311351834	220204005447	22	Soro	MONTES CLAROS	19/12/2022	21/12/2022	56	F	520139	95,73%	4842,9	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311353133	220211006271	22	Soro	MONTES CLAROS	21/12/2022	23/12/2022	33	M	447917	95,73%	4188,06	Vírus chikungunya – East-Central-South-African



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

311350893	220405003688	19	Soro	ALMENARA	18/12/2022	20/12/2022	67	F	675299	95,73%	6299,63	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311351303	220405003708	22	Soro	ALMENARA	19/12/2022	20/12/2022	23	F	463032	95,72%	4350,49	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311351312	220405003711	19	Soro	ALMENARA	19/12/2022	20/12/2022	92	M	303781	95,71%	2823,62	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311351541	220405003741	20	Soro	ALMENARA	20/12/2022	21/12/2022	34	F	596460	94,21%	5630,1	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311351549	220405003744	19	Soro	ALMENARA	20/12/2022	21/12/2022	64	F	605416	95,73%	5655,98	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311351568	220405003748	19	Soro	ALMENARA	20/12/2022	21/12/2022	38	M	486637	95,73%	4522	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311350734	220405003667	18	Soro	ITAOBIM	19/12/2022	20/12/2022	39	M	280929	95,72%	2630,09	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355752	220223001855	18	Soro	JANUARIA	28/12/2022	29/12/2022	66	F	448673	95,72%	4196,79	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311356471	220211006367	15	Soro	MONTES CLAROS	29/12/2022	30/12/2022	63	M	712845	95,73%	6702,22	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355357	220223001822	26	Soro	PEDRAS DE MARIA DA CRUZ	26/12/2022	28/12/2022	23	M	186452	95,70%	1731,75	Vírus chikungunya – East-Central-South-African



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

311355359	220223001823	20	Soro	JANUARIA	27/12/2022	28/12/2022	27	M	476604	95,71%	4446,68	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311354908	220223001776	24	Soro	BONITO DE MINAS	27/12/2022	28/12/2022	48	M	302363	93,92%	2828,86	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355251	220223001815	17	Soro	JANUARIA	27/12/2022	28/12/2022	40	M	121431	95,70%	1123,22	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311356404	220211006353	26	Soro	MONTES CLAROS	28/12/2022	30/12/2022	27	M	420738	94,90%	3939,92	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311354945	220223001779	23	Soro	ARINOS	27/12/2022	28/12/2022	7	M	295152	95,73%	2746,76	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355348	220223001817	24	Soro	JANUARIA	26/12/2022	28/12/2022	59	F	450518	95,68%	4231,13	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355381	220223001827	23	Soro	JANUARIA	26/12/2022	28/12/2022	39	M	539874	95,36%	5063,04	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355153	220223001806	20	Soro	JANUARIA	27/12/2022	28/12/2022	40	M	538128	95,73%	5016,71	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311353547	220223001710	14	Soro	JANUARIA	24/12/2022	26/12/2022	53	F	383482	95,72%	3569,36	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311354491	220223001748	16	Soro	JANUARIA	25/12/2022	27/12/2022	85	M	332312	94,40%	3084,53	Vírus chikungunya – East-Central-South-African



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

311354549	220223001766	20	Soro	JANUARIA	26/12/2022	27/12/2022	15	M	403384	95,73%	3781,08	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311353609	220223001718	22	Soro	JANUARIA	25/12/2022	26/12/2022	38	F	591673	95,72%	5537,08	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355023	220223001792	19	Soro	JUVENILIA	27/12/2022	28/12/2022	32	M	709579	95,73%	6647,22	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311354745	220405003982	24	Soro	ALMENARA	25/12/2022	27/12/2022	26	M	609382	95,73%	5692,17	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311352325	220405003844	16	Soro	ALMENARA	20/12/2022	22/12/2022	48	M	226255	95,86%	2123,3	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311353991	220405003924	15	Soro	JACINTO	24/12/2022	26/12/2022	69	F	604793	95,73%	5645,34	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311353985	220405003920	15	Soro	JACINTO	20/12/2022	21/12/2022	40	F	486253	95,43%	4544,61	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311353992	220405003925	22	Soro	JACINTO	25/12/2022	26/12/2022	20	F	389912	94,43%	3612,98	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311354855	220405003995	17	Soro	ALMENARA	25/12/2022	27/12/2022	68	M	167129	95,71%	1558,14	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355164	220405004026	19	Soro	ALMENARA	26/12/2022	28/12/2022	41	F	655903	96,20%	6215,22	Vírus chikungunya – East-Central-South-African



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

311355171	220405004030	18	Soro	ALMENARA	28/12/2022	28/12/2022	29	M	360356	95,72%	3328,1	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311355177	220405004032	15	Soro	ALMENARA	27/12/2022	28/12/2022	57	F	191906	95,71%	1780,28	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311356964	230223000058	17	Soro	JANUARIA	01/01/2023	02/01/2023	12	M	287327	95,72%	2690,39	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311359078	230223000167	17	Soro	JANUARIA	03/01/2023	05/01/2023	10	F	488702	95,73%	4629,86	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311359158	230223000172	18	Soro	BELO HORIZONTE	02/01/2023	05/01/2023	55	M	777874	95,48%	7334,07	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311356799	230223000032	18	Soro	JANUARIA	01/01/2023	02/01/2023	57	F	401177	95,53%	3763,54	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311357867	230223000091	21	Soro	JANUARIA	02/01/2023	03/01/2023	13	M	539074	95,72%	5114,9	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311357873	230223000093	28	Soro	JANUARIA	31/12/2022	03/01/2023	26	F	184905	94,23%	1728,7	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311357879	230223000094	24	Soro	JANUARIA	03/01/2023	03/01/2023	12	M	508672	95,73%	4795,37	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311357885	230223000095	24	Soro	BONITO DE MINAS	31/12/2022	03/01/2023	45	F	126644	95,67%	1174,12	Vírus chikungunya – East-Central-South-African



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

311358127	230223000122	24	Soro	JANUARIA	02/01/2023	04/01/2023	3	M	512557	95,73%	4859,71	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311356958	230223000055	19	Soro	JANUARIA	31/12/2022	02/01/2023	37	F	698474	95,72%	6492,92	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311359058	230223000165	19	Soro	JANUARIA	03/01/2023	05/01/2023	87	M	234385	95,72%	2191,29	Vírus chikungunya – East-Central-South-African
311318256	220702009487	26	Soro	UNIAO DE MINAS	15/10/2022	17/10/2022	45	F	139988	57,68%	1339,69	DENV-1- Genotype V
311334932	220407003619	28	Soro	GOVERNADOR VALADARES	17/09/2022	19/09/2022	6	F	244906	56,12%	2273,44	DENV-1- Genotype V
311336214	220403004878	22	Soro	NANUQUE	20/11/2022	22/11/2022	44	M	69621	70,16%	6786,77	DENV-1- Genotype V
311335534	220405003089	30	Soro	ALMENARA	20/11/2022	22/11/2022	41	M	176114	67,67%	1783,8	DENV-1- Genotype V
311340086	220211005908	29	Soro	MONTES CLAROS	27/11/2022	30/11/2022	9	F	262881	74,37%	2684,86	DENV-1- Genotype V
311339013	220403004913	22	Soro	CARLOS CHAGAS	21/11/2022	25/11/2022	34	F	53902	21,29%	4676,98	DENV-1- Genotype V
311348184	220305006532	26	Soro	BARAO DE MONTE ALTO	12/12/2022	15/12/2022	65	F	342432	68,89%	3375,2	DENV-1- Genotype V
311347909	220405003497	27	Soro	ALMENARA	13/12/2022	14/12/2022	42	M	55446	38,83%	4968,16	DENV-1- Genotype V
311347093	220403005056	30	Soro	CARLOS CHAGAS	06/12/2022	10/12/2022	22	M	110438	39,02%	9936,33	DENV-1- Genotype V
311347108	220403005068	30	Soro	CARLOS CHAGAS	07/12/2022	11/12/2022	56	M	238656	66,77%	2291,57	DENV-1- Genotype V



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

311350444	220705008628	26	Soro	DOURADOQ UARA	13/12/2022	16/12/2022	29	M	536689	80,79%	5376,66	DENV-1- Genotype V
311351913	220702010185	30	Soro	LIMEIRA DO OESTE	18/12/2022	21/12/2022	22	F	196852	58,80%	1871	DENV-1- Genotype V
311353834	220702010200	24	Soro	UBERABA	24/12/2022	26/12/2022	28	F	290480	77,74%	2861,06	DENV-1- Genotype V
311354216	220702010206	25	Soro	UBERABA	23/12/2022	26/12/2022	11	M	301019	80,22%	3068,78	DENV-1- Genotype V
311353629	220403005145	28	Soro	NANUQUE	10/12/2022	13/12/2022	27	M	55848	45,63%	5089,06	DENV-1- Genotype V
311353954	220403005156	29	Soro	CARLOS CHAGAS	16/12/2022	20/12/2022	23	F	59502	28,58%	5298,08	DENV-1- Genotype V
311359259	230702000038	24	Soro	UBERABA	01/01/2022	04/01/2023	40	F	26	0,00%	0,212973	Unassigned
311357857	230405000098	23	Soro	ALMENAR A	29/12/2022	03/01/2023	46	F	307	6,11%	2,59141	DENV-1- Genotyp
311341846	220705008416	20	Soro	ARAPORA	27/11/2022	01/12/2022	26	M	452775	59,22%	4489,92	DENV-2 Genotype III - Southern Asian-American
311341870	220705008418	28	Soro	ARAPORA	30/11/2022	01/12/2022	25	M	10059	18,28%	77,0247	DENV-2 Genotype III - Southern Asian-American
311350637	220705008646	22	Soro	ARAPORA	16/12/2022	18/12/2022	43	F	457164	46,12%	4534,1	DENV-2 Genotype III - Southern Asian-American
NA	NA	30	Isolado viral	NA	NA	NA	NA	NA	20560	86,29%	210918	DENV-3 - Genotype III
NA	NA	17	Isolado viral	NA	NA	NA	NA	NA	178292	85,51%	1812,27	DENV-4 - Genotype II
NA	NA	16	Isolado viral	NA	NA	NA	NA	NA	304985	92,33%	3014,36	Zika virus – Asian

Idade: anos.
F: Feminino.
M: Masculino.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

Referências:

Centre for Arbovirus: Discovery, Diagnostic, Genomics & Epidemiology – CADDE. Protocols. 2022. Disponível em: <https://www.caddecentre.org/protocols/>.

Faria NR et al. Genomic and epidemiological monitoring of yellow fever virus transmission potential. *Science*. 2018 Aug 31;361(6405):894-899. doi: 10.1126/science.aat7115. Epub 2018 Aug 23. PMID: 30139911; PMCID: PMC6874500.

Fonseca V et al. A computational method for the identification of Dengue, Zika and Chikungunya virus species and genotypes. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 May 8;13(5):e0007231. doi: 10.1371/journal.pntd.0007231. PMID: 31067235; PMCID: PMC6527240.

Romero, Filipe. ViralUnity. Disponível em: <https://github.com/filiperomero2/ViralUnity>.

Vilsker M, et al. Genome Detective: an automated system for virus identification from high-throughput sequencing data. *Bioinformatics*. 35, 871-873 (2019).



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

ANEXO III - Planilha de envio de metadados de arboviroses

Tabela 4. Planilha de envio de de metadados de arboviroses

Vírus	UF-LACEN	LAB ID Extração	Requisição GAL de envio da amostra	Requisição GAL de sequenciamento	Nome do paciente	Gênero	Idade	UF-Residência	Cidade-Residência	Bairro	Área Urbana /Rural	Data de Coleta	Data de início dos sintomas	Sintomas	CT
Dengue 1	MG		998877665544		José Carvalho	M	50	MG	Uberlândia	Fonte Boa	Urbana	01/01/2023	20/12/2022	Febre, dor de cabeça e dor atrás dos olhos	20
Dengue 2	MG		112233445566		João Carvalho	M	41	RJ	Volta Redonda	Casa Nova	Urbana	02/01/2023	21/12/2022	Febre, dor de cabeça e dor atrás dos olhos	21
Dengue 3	MG		356987412536		Maria Carvalho	F	17	BA	Nova Viçosa	Colher de Pau	Rural	03/01/2023	22/12/2022	Febre, dor de cabeça e dor atrás dos olhos	19
Dengue 4	MG		258741236548		José Sousa	M	33	MG	Viçosa	Serra Vermelha	Rural	04/01/2023	23/12/2022	Febre, dor de cabeça e dor atrás dos olhos	22
Chikungunya	MG		965423789541		João Sousa	M	77	MG	Juiz de Fora	Olho da Onça	Rural	05/01/2023	24/12/2022	Dores intensas nas articulações, dor nas costas, dores pelo corpo e febre	18
Zika	MG		132987425610		Maria Sousa	F	88	DF	Brasília	Asa Norte	Urbana	06/01/2023	25/12/2022	Dor de cabeça, febre baixa, dores leves nas articulações, manchas vermelhas na pele, coceira e vermelhidão nos olhos	20



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ARTICULAÇÃO ESTRATÉGICA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE COORDENAÇÃO-GERAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA