



SECRETARÍA DE ESTADO DE SANIDAD.
DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA

Centro de Coordinación de Alertas y
Emergencias Sanitarias



INTEGRACIÓN DE LA SECUENCIACIÓN GENÓMICA EN LA VIGILANCIA DEL SARS-CoV-2

22 de enero de 2021

Actualización 20 de julio de 2021

Este documento ha sido aprobado por la Ponencia de Alertas y Planes de Preparación y Respuesta y por la Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial

Este protocolo está en revisión permanente en función de la evolución y nueva información que se disponga de la infección por SARS-CoV-2.

1. ANTECEDENTES

La biología del virus SARS-CoV-2, al igual que el resto de los virus, lleva implícita cambios constantes en su genoma a través de mutaciones, por lo que la aparición de variantes es un hecho esperado y no es en sí mismo un motivo de preocupación (1). La adaptación evolutiva y la diversificación de SARS-CoV-2 se ha ido observando a nivel global a lo largo de la pandemia. La mayoría de las mutaciones que surgen no proporcionan una ventaja selectiva al virus, ni tampoco cambios fenotípicos que impliquen alteraciones en el comportamiento o patrón de infección. Sin embargo, algunas mutaciones o combinaciones de mutaciones pueden proporcionar al virus una ventaja selectiva como, por ejemplo, una mayor transmisibilidad a través de un aumento en la unión del receptor. Del mismo modo, existe preocupación acerca de la aparición de variantes que se asocien con un aumento de la gravedad o la letalidad, que escapen al efecto de los anticuerpos neutralizantes generados tras una infección previa o tras la vacunación, que no puedan ser detectadas mediante alguno de los métodos diagnósticos o que sean resistentes a la acción de posibles tratamientos. La aparición de variantes con estas características, podría tener consecuencias epidemiológicas importantes constituyendo un problema de salud pública con repercusiones importantes en el control de la pandemia (2).

Por ello, el ECDC ha propuesto posibles medidas de Salud Pública para contener la transmisión comunitaria de las variantes de interés (3):

- La detección precoz de la circulación de las variantes mediante secuenciación genómica en grupos diana y determinación de la incidencia de casos de dichas variantes en la población.
- Seguimiento de casos y contactos intensificado en personas con vínculos epidemiológicos conocidos con zonas donde estén circulando las variantes de interés de forma importante.
- Restricciones de viajes a zonas donde circule de forma importante una variante de interés y cuarentenas a personas que procedan de esas zonas.

La integración de los resultados de la secuenciación genómica en la vigilancia es necesaria para poder detectar y monitorizar las variantes del SARS-CoV-2 de cara a tomar las medidas de salud pública que se consideren oportunas.

El 19 de enero la Comisión Europea publicó un comunicado instando a los países a incrementar la tasa de secuenciación ya que consideran que la actual no es suficiente para identificar la progresión de las variantes o detectar nuevas. Se pidió a los Estados Miembros secuenciar al menos el 5%, y preferiblemente el 10%, de los resultados positivos de las pruebas de COVID-19, minimizar los retrasos en los resultados y garantizar que estos datos se compartieran, para poder realizar comparaciones (4).

2. INTEGRACIÓN DE LA SECUENCIACIÓN GENÓMICA EN EL SISTEMA DE VIGILANCIA

2.1 Objetivos

Los objetivos que debe perseguir la integración de la secuenciación en la vigilancia son:

1. Determinación de la incidencia de las variantes de interés para la salud pública en el conjunto de la población
2. Identificación precoz de nuevas variantes de SARS-CoV-2 de interés para la salud pública que presenten:
 - Aumento de la transmisibilidad.
 - Aumento de la virulencia.
 - Disminución de la efectividad de las medidas de control, los tratamientos, los métodos diagnósticos o la inmunidad adquirida mediante infección previa o mediante vacunación
3. Apoyar la caracterización genómico-virológica y epidemiológica de las variantes.

2.2. Puntos clave a tener en cuenta en la integración de la secuenciación en los sistemas de vigilancia

Para la integración de la secuenciación genómica dentro del sistema de vigilancia epidemiológica se debe tener en cuenta:

- La información generada debe tener como objetivo la toma de decisiones de salud
- Se ha establecido una Red de laboratorios de referencia para desarrollar y operativizar los objetivos planteados:
 - a) Los laboratorios de referencia que participan en esta vigilancia deberán estar coordinados por las autoridades sanitarias de salud pública de cada CCAA, quienes han designado los laboratorios que forman parte de esta Red.
 - b) La Red será coordinada por el Ministerio de Sanidad en colaboración con las CC.AA. y el ISCIII. El Ministerio de Sanidad coordinará los aspectos de integración de la información proporcionada por la vigilancia genómica en la vigilancia epidemiológica. El Centro Nacional de Microbiología (CNM) del ISCIII coordinará los aspectos virológicos para lo que se cuenta con un **Comité Técnico Coordinador**. Este Comité revisará de forma periódica qué información obtenida mediante secuenciación genómica se considera relevante para ser notificada a través del sistema de vigilancia y asistirá al resto de miembros de la Red en la definición de las técnicas, protocolos y procedimientos que se van a utilizar para garantizar que los resultados sean comparables a nivel nacional. En el Anexo 1 se recogen sus objetivos y composición.
 - c) El Centro Nacional de Microbiología del ISCIII prestará apoyo para realizar la secuenciación y análisis bioinformático a aquellas CC.AA. que no dispongan de suficiente capacidad.

- d) Para cumplir con los objetivos de vigilancia genómica a nivel nacional e informar según establece la OMS y ECDC, al menos una parte representativa de las secuencias que se ajusten a criterios de calidad internacional se compartirán con el Centro Nacional de Microbiología según se establezca. El Centro Nacional de Microbiología será el responsable de la comunicación de los resultados de secuenciación a los organismos de vigilancia internacionales (OMS, ECDC).
- La Red **dará respuesta a las necesidades que desde Salud Pública se establezcan**. En este sentido, en el momento actual las prioridades son la identificación y seguimiento de las variantes que circulan en nuestro país y además realizar el estudio de los casos y situaciones en las que se considera que una nueva variante de interés para la salud pública pudiera estar implicada. **Se debe garantizar una agilidad suficiente** entre la obtención de muestras y su secuenciación, siempre teniendo en cuenta las capacidades disponibles.
 - La capacidad de análisis bioinformático de las secuencias puede limitar la obtención de resultados, por lo que en determinadas situaciones puede diseñarse una estrategia de análisis abreviado, dirigido al análisis de determinadas dianas de especial relevancia (espícula, etc.).
 - La base de datos SiViEs se adaptará para que se puedan introducir los resultados obtenidos de la secuenciación en cada uno de los casos en los que se realice. Las CC.AA adaptarán sus sistemas para poder introducir esta información.
 - Cualquier laboratorio que realice la secuenciación o derive muestras a otro centro para su secuenciación tiene la obligación de enviar los resultados de este análisis a salud pública de la comunidad autónoma correspondiente, para garantizar la integración de la secuenciación con la información epidemiológica.
 - Además de los resultados de la secuenciación, la información derivada de la realización de pruebas de PCR específicas para determinadas variantes puede ser de gran utilidad para la toma de decisiones en salud pública, especialmente al inicio de la circulación de una nueva variante.

2.3. Estrategias de selección de muestras para secuenciación

- Secuenciación de muestras seleccionadas por muestreo aleatorio con el objetivo de determinar la incidencia de las variantes de interés para la salud pública en el conjunto de la población:

- Se realizará un muestreo aleatorio y representativo de las muestras analizadas correspondiendo el 80% de ellas a muestras procedentes de Atención Primaria y el 20% a muestras procedentes de Atención Hospitalaria. Se deberá tener en cuenta también que las muestras no procedan de un mismo origen (por ejemplo, muestras pertenecientes a un mismo brote) y que sean seleccionadas independientemente de los posibles resultados en PCRs específicas capaces de detectar determinadas mutaciones. También las muestras de viajeros deberían excluirse expresamente de este muestreo aleatorio.

Los criterios para la selección de muestras en este tipo de muestreo serán establecidos por los responsables de Salud Pública de cada comunidad autónoma. El número mínimo de muestras secuenciadas dependerá de la incidencia de cada territorio. **Como norma general, el objetivo es alcanzar al menos entre un 5 y un 10% de los casos diagnosticados.**

- Secuenciación de muestras seleccionadas de manera dirigida, para la identificación precoz de nuevas variantes de SARS-CoV-2 de interés para la salud pública, siguiendo los siguientes criterios:
 - **Sospecha de reinfección** de acuerdo con la definición establecida en la Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19 (<https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCoV/documentos.htm>)
 - **Casos en personas completamente vacunadas** de acuerdo con la definición establecida en la Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19 (<https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCoV/documentos.htm>)
 - **Casos confirmados que no responden al tratamiento con plasma de convaleciente o anticuerpos monoclonales.**
 - **Casos en los que se sospecha alguna variante de preocupación (VOC) o de interés (VOI) conocida y poco frecuente:** se realizará secuenciación en aquellos casos con vínculos epidemiológicos (en los 14 días previos al inicio de síntomas o a la fecha de toma de muestra para casos asintomáticos) con lugares o ámbitos en los que se haya descrito una elevada incidencia de variantes de preocupación o de interés que hayan sido detectadas en baja frecuencia en nuestro territorio. En este sentido, para el estudio de brotes, no será necesario secuenciar la totalidad de los casos pero sí el mínimo que permita establecer los vínculos

epidemiológicos necesarios. Del mismo modo, al tratarse de variantes conocidas, será suficiente con llevar a cabo una secuenciación parcial que permita asignar el virus a un determinado linaje. Las técnicas de PCR capaces de detectar mutaciones concretas pueden ser de ayuda en estos casos como métodos de cribado que permitan una identificación preliminar pero su resultado no será considerado definitivo en cuanto a la determinación del linaje.

- **Sospecha de transmisibilidad o virulencia extraordinariamente elevadas:** brotes con tasas de ataque secundario o proporciones de casos graves mayores de las esperadas y aumentos muy rápidos de la incidencia en un territorio sin una explicación epidemiológica plausible. En este caso no será necesario secuenciar la totalidad de los casos sino los necesarios para establecer los vínculos epidemiológicos implicados (de forma aproximada, un 10% de las muestras o 4 o 5 casos en el estudio de brotes). También puede considerarse en casos individuales con un comportamiento clínico no esperado por su gravedad.
- **Sospecha de fallo de los métodos diagnósticos:** casos en los que se confirme un resultado positivo con una técnica de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) que sugiera una carga viral elevada y resultado negativo mediante otra TAAN o técnicas de detección de antígenos.

Salvo en aquellos casos en los que se especifica lo contrario, el tipo de secuenciación realizada será secuenciación del genoma completo.

2 PROCEDIMIENTO DE LA TOMA Y ENVÍO DE MUESTRA

El procedimiento de la toma de muestra será el habitual para las muestras respiratorias ([toma y transporte de muestras para diagnóstico por PCR de SARS-CoV-2](#))

1. Se analizarán exudados nasofaríngeos (u otras muestras respiratorias cuando proceda) para realización de PCR y secuenciación.
2. Para el transporte, si es posible se recomienda utilizar un medio de transporte de virus **SIN sustancias inactivantes**. El envío de las muestras se hará siguiendo las instrucciones descritas en el anexo 1 del documento *Toma y transporte de muestras para diagnóstico por PCR de SARS-CoV-2*.
3. La secuenciación se realizará en los laboratorios designados en cada Comunidad autónoma o en su defecto, las muestras se enviarán al Centro Nacional de Microbiología o a los laboratorios de referencia que se designen. Las muestras que se envíen para secuenciar deben tener un Ct<30.

El envío al CNM se realizará por los métodos habituales, utilizando el código GIPI Programa de Vigilancia SARS-CoV-2. La muestra deberá ser identificada (de acuerdo con el sistema establecido por Salud Pública de cada CCAA) de tal modo que garantice la integración de los resultados con la información epidemiológica en SiViEs.

El ECDC y la OMS han elaborado documentos técnicos que pueden servir de guía para la secuenciación (5,6).



SECRETARÍA DE ESTADO DE SANIDAD.
DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA

Centro de Coordinación de Alertas y
Emergencias Sanitarias



ANEXO 1. Comité Técnico Coordinador de la Red de Laboratorios de Secuenciación de SARS-CoV-2.

La Red cuenta con un Comité Técnico Coordinador, que tiene los siguientes objetivos:

- Elaborar y tener actualizado un catálogo con la información sobre los laboratorios que forman parte de la Red y los recursos disponibles en dichos laboratorios.
- Estandarizar los procedimientos de secuenciación
- Revisar de forma periódica qué información obtenida mediante secuenciación genómica se considera relevante para la vigilancia.
- Favorecer que la transmisión de la información genómica de interés se realice de tal manera que facilite su inclusión en la notificación de casos a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica
- Proponer mecanismos de intercambio de información virológica entre los laboratorios de la red según las prioridades que se establezcan
- Proponer y apoyar la realización de los estudios que se consideren necesarios para tomar medidas de salud pública.
- Evaluar, elaborar y difundir un informe anual de las actividades realizadas por la Red.

El comité establecerá sus propios procedimientos de funcionamiento y toma de decisiones. Del mismo modo, será el propio comité el que establezca la frecuencia con la que se reunirá.

Este comité estará formado por:

- Dos representantes del CNM, que actuarán como coordinador y secretario del Comité.
- Un representante del Centro Nacional de Epidemiología (CNE).
- Un representante del Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES).
- Un representante de SeqCOVID en representación de los consorcios dedicados a la vigilancia genómica.
- Cuatro representantes de laboratorios con capacidad de secuenciación.
- Un representante de un laboratorio sin capacidad de secuenciación.
- Dos representantes del sistema de vigilancia de salud pública de las CC.AA.

Los representantes de los laboratorios serán elegidos de forma rotatoria cada dos años entre los miembros de la red. Los representantes de Salud Pública de las CC.AA. serán elegidos también de forma rotatoria cada dos años entre los miembros de la Ponencia de Vigilancia Epidemiológica.

Para asegurar una mayor representatividad territorial, se elegirán representantes de laboratorios y de Salud Pública de diferentes CC.AA. siempre que esto sea posible.

El Comité, por lo tanto, quedará compuesto por doce miembros, ostentando el Coordinador el voto de calidad.

BIBLIOGRAFÍA:

1. van Dorp L, Richard D, Tan C, Shaw L, Acman M, Balloux F. No evidence for increased transmissibility from recurrent mutations in SARS-CoV-2. Nature communications [Internet]. 25 de noviembre de 2020 [citado 23 de diciembre de 2020]; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33239633/>
2. Ministerio de Sanidad. Circulación de variantes de SARS-CoV-2 de mayor impacto e interés para la salud pública en España. Evaluación rápida de Riesgo. [Internet]. 2021 jun. Disponible en: <https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/20210608-EER.pdf>
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Risk related to spread of new SARS-CoV-2 variants of concern in the EU/EEA [Internet]. 2020 dic. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/COVID-19-risk-related-to-spread-of-new-SARS-CoV-2-variants-EU-EEA.pdf>
4. European Commission. Communication from the Commission to the European Parliament, the European Council and the Council. A united front to beat COVID-19. [Internet]. 2021 [citado 13 de julio de 2021]. Disponible en: [https://ec.europa.eu/transparency/documents-register/detail?ref=COM\(2021\)35&lang=en](https://ec.europa.eu/transparency/documents-register/detail?ref=COM(2021)35&lang=en)
5. Sequencing of SARS-CoV-2 [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. 2020 [citado 13 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/sequencing-sars-cov-2>
6. Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health [Internet]. [citado 13 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240018440>