



INSTITUTO
NACIONAL DE
SALUD



La salud
es de todos

Minsalud

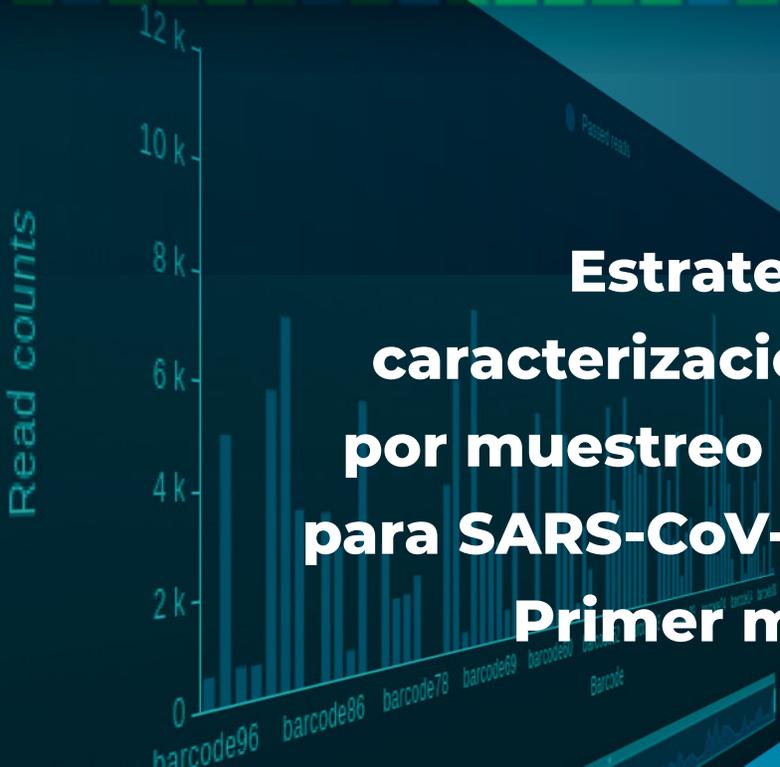
164
Sequencing

186
Pore

62
Recovering

56
Inactive

44
Unclassified



Estrategia de caracterización genómica por muestreo probabilístico para SARS-CoV-2 en Colombia: Primer muestreo

Programa Nacional
de Caracterización Genómica
de SARS-CoV-2



Contenido

| | |
|---|----|
| 1. Introducción | 3 |
| 2. Objetivos de la Vigilancia Genómica: | 4 |
| 3. Metodología | 4 |
| 4. Procedimiento | 5 |
| 5. Resultados | 6 |
| 6. Conclusiones | 9 |
| 7. Perspectivas | 9 |
| 8. Declaración de derechos de autor © | 9 |
| 9. Referencias | 10 |

Estrategia de caracterización genómica por muestreo probabilístico para SARS-CoV-2 en Colombia: Primer muestreo

1. Introducción

Para la prevención de transmisión de SARS-CoV-2 las estrategias y las medidas de autocuidado, distanciamiento social, aislamiento preventivo y vacunación que recomienda la Organización Mundial de la Salud (OMS), siguen vigentes contra las variantes del SARS-CoV-2 detectadas desde el comienzo de la pandemia. Se ha demostrado en diversos países con amplia circulación de variantes preocupantes que las medidas sociales y de salud pública reducen eficazmente el número de casos, hospitalizaciones y muertes por COVID-19. Sin embargo, es indispensable reforzar la capacidad de vigilancia genómica, y adoptar un enfoque sistemático durante la selección de muestras representativas, para evidenciar y proporcionar una indicación representativa de la amplitud de la transmisión de las variantes del virus basada en los contextos locales y detectar cualquier suceso epidemiológico inusual que pueda estar relacionado con la circulación de dichas variantes.

Con los datos de vigilancia genómica y clínica a nivel mundial, la OMS, el grupo interinstitucional del gobierno de EE. UU. y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) propusieron un esquema de clasificación de variantes a nivel jerárquico con tres clases de variantes del SARS-CoV-2: 1) Variante de interés (VOI), 2) Variante de preocupación (VOC) y 3) Variante de alta consecuencia (VOHC). Una VOI se caracteriza por un conjunto de sustitu-

ciones en el gen S de la proteína Spike asociadas con un aumento de la infectividad, resistencia a los anticuerpos post-vacunación/infección y a un posible aumento de la transmisibilidad. VOC, además de los posibles atributos de VOI, evidencia mayor transmisibilidad y severidad de la enfermedad, reducción en la neutralización de anticuerpos (tratamientos o vacunas) y VOHC, aunque actualmente no existe ninguna variante de SARS-CoV-2 identificado dentro de esta clasificación, se espera que además de los posibles atributos de un VOC, presente fuerte evidencia de falla diagnóstica, una reducción significativa en la efectividad de las vacunas, terapias aprobadas, y severidad de la enfermedad (1).

La vigilancia genómica en tiempo real permite identificar cambios en la diversidad genética del virus y el surgimiento de nuevas variantes/linajes. Para esto, es necesario establecer series temporales de muestreo incluyendo una cantidad apropiada de muestras representativas, por regiones, diferentes grupos de riesgo y casos especiales. La estrategia de caracterización genómica en Colombia es mixta, combina una estrategia de muestreo inteligente basado en la selección de muestras que cumplan con criterios epidemiológicos, virológicos y geográficos y **una estrategia probabilística** con frecuencia de cada cuatro meses que incluye un total de muestras seleccionadas aleatoriamente basándose en los reportes originados de los laboratorios de la red ampliada de diagnóstico de

RT-PCR en SISMUESTRAS. Para el desarrollo de estas estrategias se conformó el Programa Nacional de Caracterización Genómica de SARS-CoV-2 con una red de laboratorios con capacidad técnico científica para realizar secuenciación genómica en diferentes regiones del país, esta red, ha sido definida teniendo en cuenta la disponibilidad de reactivos para los

2. Objetivos de la Vigilancia Genómica:

- Monitorear las tendencias espaciales y temporales de las variantes de SARS-CoV-2 que circulan en el territorio colombiano.
- Identificar en tiempo real variantes emergentes de SARS-CoV-2 en las que se establezca introducción o transmisión local a través de selección de criterios y por muestreo poblacional en el territorio nacional.
- Identificar posible emergencia de nuevas variantes genómicas, mutaciones, inserciones y deleciones (INDELS) asociadas a los siguientes escenarios:
 - Aumento de la transmisibilidad y severidad.
 - Presencia de infecciones en vacunados con esquemas completos.
 - Reinfecciones

3. Metodología

Diseño estadístico

Tipo de muestreo: Teniendo en cuenta los objetivos y las características del estudio, se optó por una muestra probabilística multietápica con distribución proporcional.

Probabilística: Cada unidad de muestreo tiene una probabilidad de selección conocida y superior a cero. Esta información permite determinar *a priori* la precisión deseada en las estimaciones y posteriormente, calcular la precisión de los resultados obtenidos a partir de la información recolectada.

Multietápica: Para lograr la selección de las unidades de observación (departamentos y/o distritos, laboratorios) se seleccionaron secuencialmente las unidades de muestreo en dos etapas: unidad primaria de

laboratorios que conforman y las recomendaciones de la guía de la OMS publicada el 01 de febrero de 2021: “Orientaciones para la selección de muestras de SARS-CoV-2 para caracterización y vigilancia genómica”, las líneas principales de la estrategia se describen en el enlace. <https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/coronavirus-genoma.aspx>.

muestreo (UPM) y unidad secundaria de muestreo (USM) con probabilidades de selección en función del número de laboratorios.

- En la primera etapa, la UPM, selecciona el departamento con laboratorios de diagnóstico de pruebas RT-PCR para SARS-CoV-2. Para esta selección, se utiliza una selección de muestra proporcional al tamaño sistemática (PPT-SIS).
- En la segunda etapa (USM), se seleccionan muestras con la prueba RT-PCR positiva con CT < 25 mediante un muestreo aleatorio simple (MAS).

Los cálculos se realizan con las fórmulas correspondientes al tipo de diseño muestral, para un tamaño de 1.852 muestras (que incluye el 10% de pérdidas) que se distribuyeron de manera proporcional por ente territorial así:

Tabla 1. Distribución de solicitud de muestras a laboratorios de RT-PCR por entidad territorial. Colombia abril 15 a junio 15 de 2021

| Departamento y/o Distrito | Total, muestras solicitadas |
|---------------------------|-----------------------------|
| Amazonas | 2 |
| Antioquia | 360 |
| Arauca | 8 |
| Atlántico | 320 |
| Bogotá | 737 |
| Bolívar | 44 |
| Boyacá | 21 |
| Caldas | 14 |
| Caquetá | 5 |
| Cauca | 6 |
| Cesar | 48 |
| Córdoba | 30 |
| Cundinamarca | 10 |
| La Guajira | 9 |
| Huila | 12 |
| Magdalena | 28 |
| Meta | 2 |
| Nariño | 8 |
| Norte de Santander | 8 |
| Putumayo | 4 |
| Quindío | 19 |
| Risaralda | 12 |
| Santander | 22 |
| Sucre | 5 |
| Tolima | 8 |
| Valle del Cauca | 96 |
| Guanía | 14 |
| Total | 1852 |

4. Procedimiento

Con una periodicidad de cada cuatro meses se realizó un estudio de corte transversal con muestreo probabilístico para lo cual se incluyeron los siguientes aspectos:

- a. Se determinó el tamaño de muestra de los laboratorios de la red de diagnóstico de RT-PCR y se aleatorizó el grupo de laboratorios que participa mensualmente en el envío de las muestras para secuenciación, teniendo en cuenta su representatividad por departamento.
- b. Se calculó el tamaño de la muestra a secuenciar de acuerdo con:
 - I. Número de pruebas RT-PCR positivas en el mes del muestreo

Los laboratorios para secuenciación participantes en el primer muestreo probabilístico y que pertenecen al Programa Nacional de Caracterización Genómica del INS fueron:

- Instituto Nacional de Salud
- Corpogen
- Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá
- Universidad Nacional de Colombia sede Medellín - Lab. One Health
- Corporación de Ciencias Biológicas (CIB)
- Universidad del Rosario
- Laboratorio de Salud Pública de Antioquia
- Universidad de los Andes
- Universidad del Magdalena

II. Porcentaje de pruebas RT-PCR positivas con CT menor a 25 (criterio elegibilidad de las muestras para secuenciación).

Para el cálculo se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros:

- Proporción promedio de pruebas RT-PCR positivas con valores de $CT < 25 = 22.83\%$
 - Error de muestreo marginal = 2,5%
 - Efecto del diseño (Deff) = 2
- c. Se solicitó a cada laboratorio seleccionado el listado nominal de pruebas positivas de RT-PCR con $CT < 25$ del periodo de estudio.

- d. De acuerdo con el tamaño de la muestra calculada, se asignó proporcionalmente a cada laboratorio de diagnóstico un número de muestras aleatorizadas.
- e. Al laboratorio de la red diagnóstico de RT-PCR se le envió el listado de muestras seleccionadas aleatoriamente para luego enviar las muestras a los laboratorios de la red del Programa Nacional de Caracterización Genómica de SARS-CoV-2.
- f. En la red de laboratorios del Programa Nacional de Caracterización Genómica de SARS-COV-2 se verificó nuevamente mediante prueba RT-PCR, que después del transporte de la muestra, aun se cumplía con el criterio de valor de $CT < 25$, cadena de frío y volumen de la muestra para posteriores experimentos de secuenciación.
- g. Los laboratorios de la red del Programa Nacional de Caracterización Genómica de SARS-COV-2 realizaron los experimentos de secuenciación siguiendo el protocolo disponible en el micrositio de Genómica del INS disponible en <http://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/Secuenciacion-genoma-completo-SARS-COV-2-secuenciador-MINION.pdf> y se consideró como secuencias exitosas para ser publicadas en GISAID aquellas que tienen una cobertura mayor al 70%, teniendo en cuenta que es la cobertura mínima para asignación de linaje en algoritmo Pangolin.
- h. Todas las secuencias obtenidas en los experimentos fueron corroboradas a nivel de cobertura, profundidad y mutaciones específicas por el grupo de Genómica de microorganismos emergentes del INS

5. Resultados

La recolección de todas las muestras se realizó entre el 15 de abril y 15 de junio de 2021, donde participaron 58 laboratorios con representando 27 entidades territoriales.

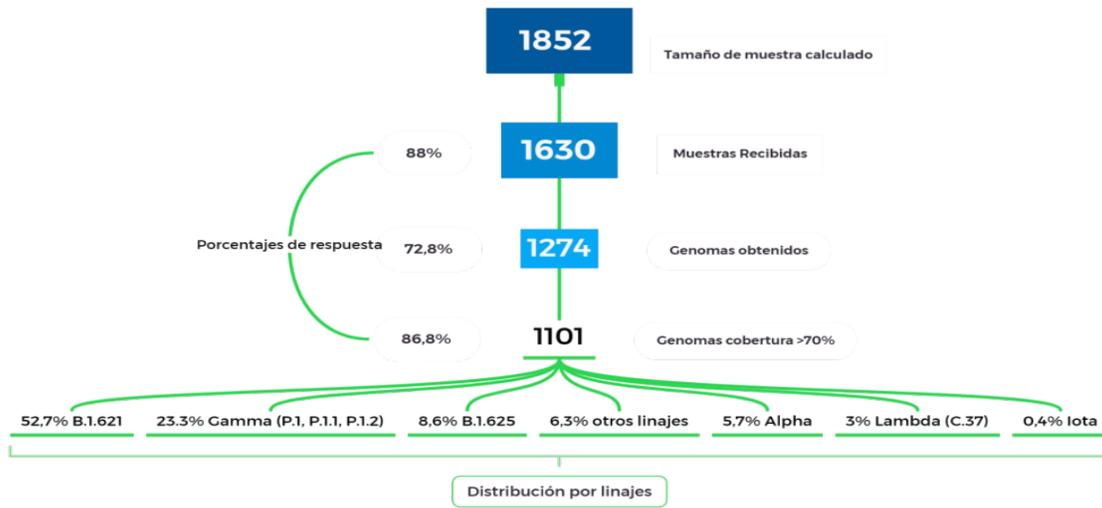
De un total de 1.852 muestras se recibieron 1.630 las restantes 222 no se incluyeron para secuenciación por: pérdida de cadena de frío, volumen insuficiente de la muestra, no disponibilidad de muestra o envío por fuera del tiempo establecido. (Figura 1),

De las muestras recibidas (1.630) se confirma de nuevo para cada una por RT-PCR, que el valor de CT sea me-

nor a 25, para así garantizar el éxito en la obtención de secuencias. Como resultado de este paso 356 muestras no cumplen con la verificación de este criterio y por lo tanto no eran fueron óptimas para secuenciación.

Del total de muestras secuenciadas (1.274), se consideran exitosas para ser publicadas en GISAID aquellas que tienen una cobertura mayor al 70% para asignación de linaje por el algoritmo Pangolin obteniendo así un total final de 1.101 secuencias adecuadas.

Figura 1. Tasas de respuesta en proceso muestral. Colombia abril 15 a junio 15 de 2021



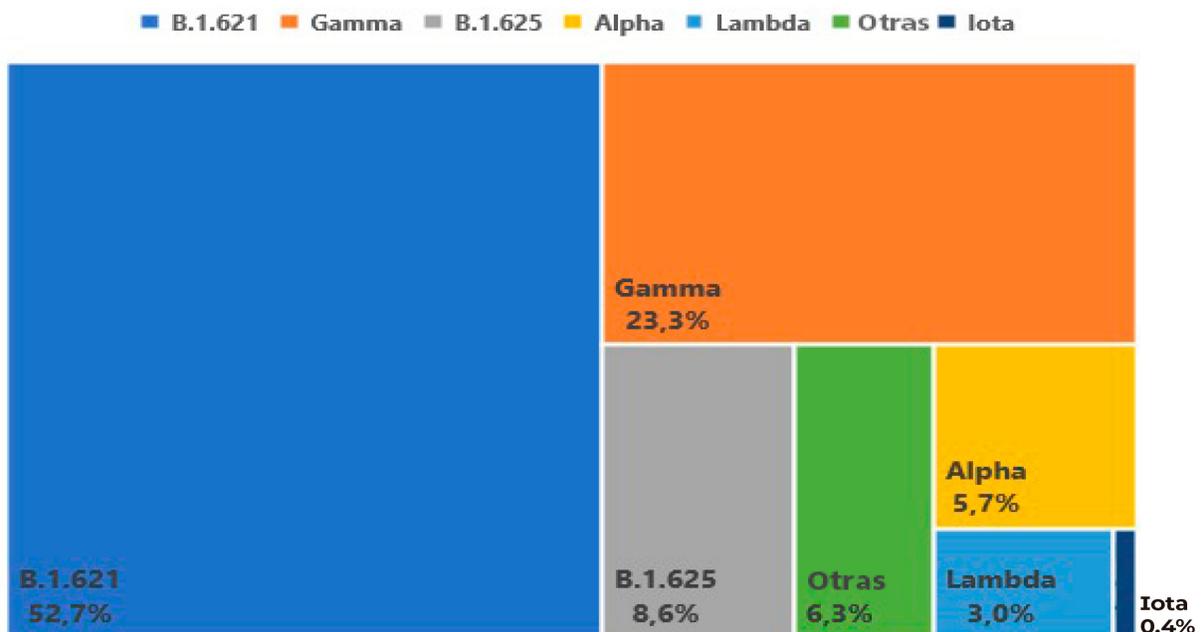
Fuente: Dirección de Investigación - Vigilancia Genómica

La distribución porcentual de los linajes circulantes en Colombia obtenidos a partir de las 1101 secuencias se describe en la figura 2. El linaje más frecuentemente encontrado fue B.1.621 con un 52,7% (580/1101),

seguido por los linajes que representan la variante Gamma P.1, P.1.1 y P.1.2 con un 23,3% (257/1101).

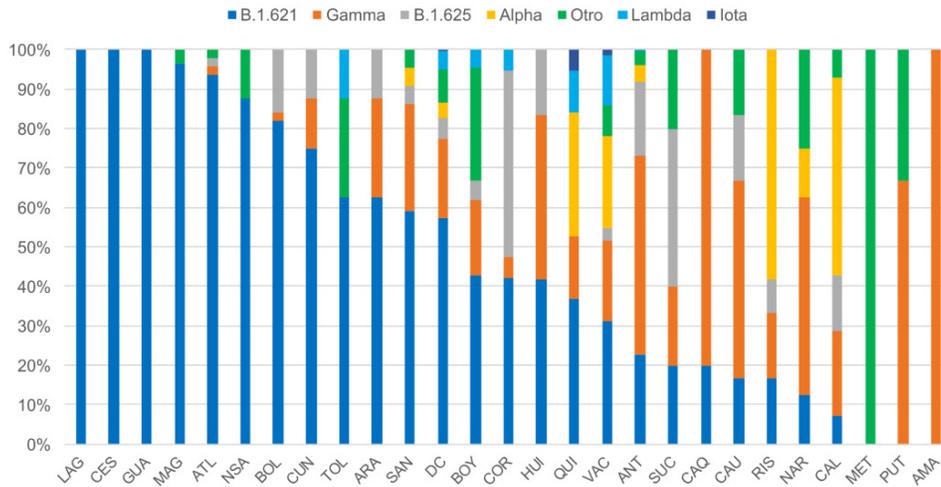
La distribución detallada de cada variante/linaje por entidad territorial se describe en las figuras 3 y 4.

Figura 2. Peso proporcional de los linajes /variantes de SARS-COV-2 identificados en el muestreo probabilístico. Colombia abril 15 a junio 15 de 2021



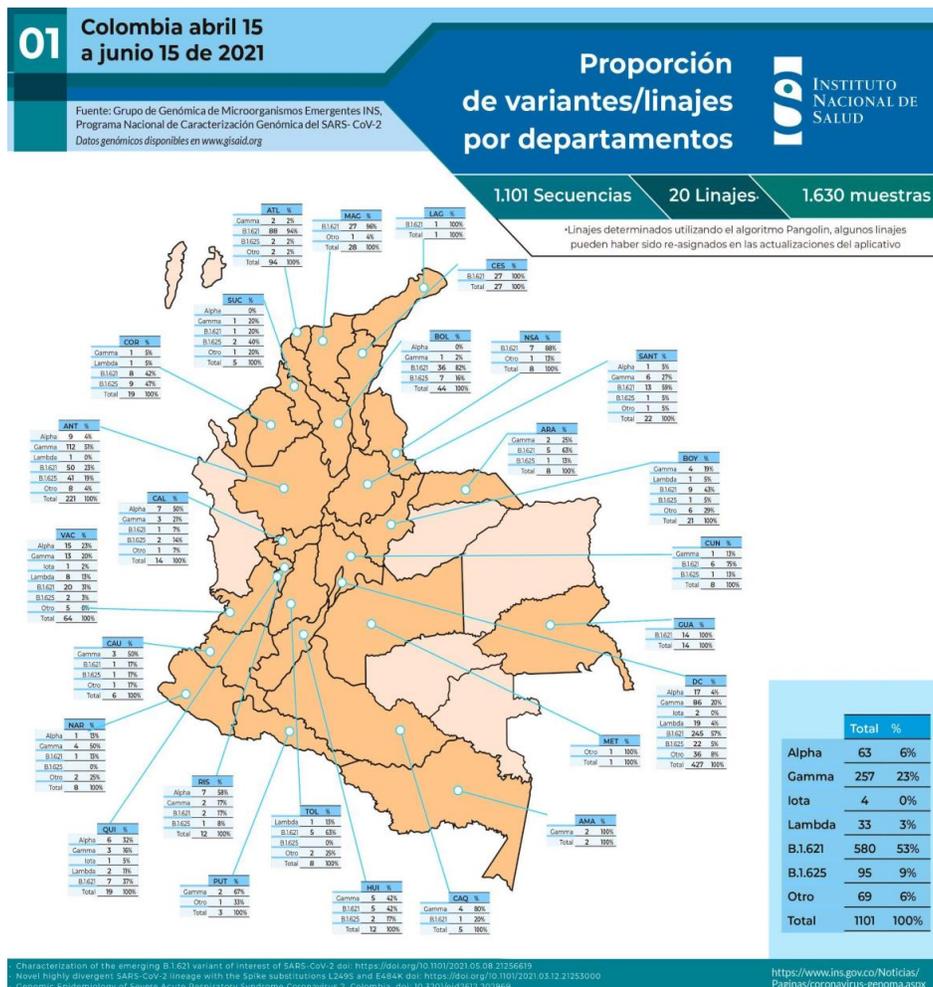
Fuente: Dirección de Investigación - Vigilancia Genómica

Figura 3. Proporción de variantes/linajes por entidad territorial. Abril 15 a junio 15 de 2021



Fuente: Dirección de Investigación - Vigilancia Genómica

Figura 4. Distribución de variantes/linajes por entidad territorial según muestreo probabilístico. Colombia abril 15 a junio 15 de 2021



Fuente: Dirección de Investigación - Vigilancia Genómica

6. Conclusiones

1. La proporción de los linajes de SARS-COV-2 obtenidas mediante el muestreo probabilístico son similares a lo reportado en la caracterización genómica rutinaria, lo que evidencia el adecuado desempeño de la vigilancia genómica basada en criterios de selección. Es necesario evaluar a nivel biológico el impacto de cada variante en la transmisibilidad, severidad y dinámica epidemiológica.
2. El tamaño de muestra calculado cumplió con los criterios de disponibilidad de recursos y capacidad técnica de laboratorios para realizar secuenciación.
3. El muestreo probabilístico en conjunto con la caracterización genómica rutinaria monitorea en tiempo real los cambios en las variantes, la introducción de variantes y la emergencia de nuevas variantes en el país.
4. Los porcentajes de respuesta en cada etapa del muestreo estuvieron dentro de lo esperado considerando los diferentes factores que pueden generar la pérdida de muestras durante el muestreo.
5. Los entes territoriales Vichada, Casanare, Vaupés, Guaviare, Chocó y San Andrés no se incluyeron en el primer muestreo probabilístico por no disponer en el periodo de estudio de muestras RT-PCR con criterio de $CT < 25$

7. Perspectivas

El muestreo probabilístico se hace tres veces al año, cada cuatro meses aproximadamente, en el rango de fechas de abril – agosto – diciembre.

8. Declaración de derechos de autor ©

Toda la información incluida en este informe, como texto, gráficos, fotografías, logotipos e imágenes, es propiedad exclusiva del Instituto Nacional de Salud - INS - y está protegida por las leyes de derechos de autor internacionales. Otros nombres de firmas y logotipos pueden ser marcas o marcas registradas de otros.

Se permite la visualización y la fotocopia (o impresión) de materiales de este informe solo para uso informativo. Se prohíbe estrictamente cualquier otro copiado, distribución, retransmisión o modificación de la información en este documento, ya sea en forma electrónica o copia impresa, sin el previo permiso expreso por escrito al Instituto Nacional de Salud - INS. En caso de cualquier copiado, redistribución o publicación autorizada del material con derechos de autor, no se realizarán cambios, supresiones, atribuciones de autoría, colocaciones de leyenda de marca registrada o de aviso de derechos de autor. Todo en el marco del convenio establecido con los laboratorios.

9. Referencias

1. Centers for Disease Control and Prevention, 2021. SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. Cdc 1–12.
2. Organización Mundial de la Salud. Declaración sobre la segunda reunión del Comité de Emergencias del Reglamento Sanitario Internacional (2005) acerca del brote del nuevo coronavirus (2019-nCoV). 30 de enero de 2021. Disponible en: [https://www.who.int/es/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/es/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov))
3. Organización Mundial de la Salud. Alocución de apertura del Director General de la OMS en la rueda de prensa sobre la COVID-19 celebrada el 11 de marzo de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
4. World Health Organization. Genomic sequencing of SARS-CoV-2 A. A guide to implementation for maximum impact on public health. (2021).
5. WHO/OMS. SARS-CoV-2 genomic sequencing for public health goals. 1–20 (2021).
6. World Health Organization. COVID-19 Weekly Epidemiological Update. 7 february 2021. World Heal. Organ. 1–3 (2021).
7. GISAID Initiative.
8. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Actualización epidemiológica: Variantes de SARS-CoV-2 en las Américas. 26 de enero de 2021. (2021).
9. World Health Organization. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19): interim guidance, 28 January 2021. (World Health Organization, 2021).
10. Taiaroa, G. et al. Direct RNA sequencing and early evolution of SARS-CoV-2. (2020). doi:10.1101/2020.03.05.976167
11. Organización Panamericana de la Salud (PAHO/WHO). Directrices de Laboratorio para la Detección y el Diagnóstico de la Infección con el virus COVID-19. 30 de marzo de 2020. Pan Am. Heal. Organ. Heal. Organ. 1–8 (2020).
12. Instituto Nacional de Salud - República de Colombia. Lineamientos para la vigilancia por laboratorio de virus respiratorios. MinSalud 01, (2020).
13. Ministerio de Transporte, R. de C. Decreto No 1609 del 31 de julio de 2002 'Por el cual se reglamenta el manejo y transporte terrestre automotor de mercancías peligrosas por carretera'. 30 (2002).
14. Instituto Nacional de Salud - República de Colombia. PROCEDIMIENTO PARA EL TRANSPORTE POR VÍA AÉREA DE MUESTRAS Y SUSTANCIAS INFECCIOSAS PARA ANÁLISIS DE EVENTOS DE INTERÉS EN SALUD PÚBLICA EN EL TERRITORIO NACIONAL. in RAC 160 – Programa Nacional de Seguridad de la Aviación Civil Generalidades: Adjunto 12, (Instituto Nacional de Salud - República de Colombia, 2017).
15. ICONTEC. NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC 1692:2013. TRANSPORTE. TRANSPORTE DE MERCANCÍAS PELIGROSAS DEFINICIONES, CLASIFICACIÓN, MARCADO, ETIQUETADO Y ROTULADO. (ICONTEC, 2013).
16. World Health Organization. Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019 – 2020: aplicable a partir del 1 de enero de 2019. (Organización Mundial de la Salud, 2019).

Informe elaborado por:

Marcela Mercado Reyes. Bacterióloga, MSc Epidemiología Clínica. Directora de Investigación en Salud Pública Instituto Nacional de Salud.

Katherine Laiton Donato. Bacterióloga y laboratorista clínico. MSc en Ciencias Microbiología. (c) PhD en Ciencias Básicas Biomédicas Virología. Grupo Genómica de microorganismos emergentes. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.

Carlos Franco Muñoz. Biólogo. MSc en Ciencias Bioquímica. Grupo de Genómica de microorganismos emergentes. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.

Diego Álvarez Díaz. Biólogo. MSc en Ciencias Biomédicas. (c) PhD en Ciencias Biología. Grupo Genómica de microorganismos emergentes. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.

Secuencias realizadas por:

- Instituto Nacional de Salud: Grupo de Genómica de microorganismos emergentes.
- Corpogen: Patricia del Portillo, Cristian Romero y Maryam Chaib.
- Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá: Luis Fernando Cadavid, Andrés Pinzón, Marta Murcia y Emiliano Barreto.
- Universidad Nacional de Colombia sede Medellín - Lab. One Health: Juan Pablo Hernández y Andrés Cardona.

Héctor Alejandro Ruiz, Ingeniero Químico. MSc en Biología Computacional. Grupo de Genómica de microorganismos emergentes. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.

Paola Rojas. Bióloga. MSc en Biología Computacional. Grupo de Genómica de microorganismos emergentes. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.

Silvana Zapata Bedoya, Profesional en Gerencia en sistemas de información de salud. MSc en Epidemiología, Esp. en Sistemas de Información Geográfica. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.

Norma Patricia Celis Cruz, Ingeniería Industrial, especialista en gestión pública, maestría en administración, Dirección General-INS.

Alexander Casas Castro, Diseño y Diagramación.

- Corporación de Ciencias Biológicas (CIB): Jaime Cano y Uriel Hurtado.
- Universidad del Rosario: Juan David Ramírez.
- Laboratorio de Salud Pública de Antioquia: Idabely Betancur Ortiz y Sandra Cano.
- Universidad de los Andes: Silvia Restrepo y Marcela Guevara.
- Universidad del Magdalena: Lyda Castro y María Teresa Mojica.