



OP 601

3827

ORD. A 111 N°

**ANT. :** Ord. N°514 de fecha 03.05.2021 de la División Jurídico-Legislativa del Ministerio Secretaría General de la Presidencia, Resolución N°1521 de fecha 29.04.2021 de la Cámara de Diputadas y Diputados.

**MAT. :** Informa sobre la posibilidad de fortalecer y aumentar los esfuerzos en las labores de vigilancia genómica para identificar variantes o cepas extranjeras de SARS-CoV-2.

Santiago, 29 SEP 2021

**DE :** MINISTRO DE SALUD

**A :** PRESIDENTE DE LA CÁMARA DE DIPUTADAS Y DIPUTADOS

Junto con saludar, hemos recibido el documento señalado en el antecedente, mediante el cual se solicita informar sobre la posibilidad de fortalecer y aumentar los esfuerzos en las labores de vigilancia genómica para identificar variantes o cepas extranjeras de SARS-CoV-2.

Al respecto, comunico a usted que con fecha 27 de abril de 2021, este Ministerio aprobó la Resolución Exenta N°403 (cuya copia se adjunta), sobre el *Proyecto de vigilancia genómica de SARS-COV-2*, con el propósito de fortalecer la vigilancia genómica de SARS-CoV-2 e integrarla como un componente del sistema de vigilancia en la salud pública, en el marco de la pandemia por COVID-19, a través de una alianza estratégica de instituciones afines en Chile.

Los objetivos son:

- Identificar oportunamente la emergencia o circulación de nuevas variantes de SARS-CoV-2 a través de vigilancia en centros de salud, en grupos especiales y en puntos de entrada al país.
- Determinar la propagación geográfica y temporal de variantes de SARS-CoV-2 en el país.
- Estimar el potencial impacto de las nuevas variantes en transmisibilidad, severidad y en la efectividad de las intervenciones para el manejo de la enfermedad.

Esta vigilancia se basa en la detección de casos de COVID-19 y la posterior selección de muestras positivas para la secuenciación genética, según criterios de relevancia epidemiológica, priorizando las muestras de pacientes hospitalizados o pertenecientes a centros de salud, grupos especiales y viajeros. Lo anterior se realizará por medio de la red de laboratorios de virus respiratorios, el Instituto de Salud Pública y otras instituciones colaboradoras.

La pesquisa de nuevas variantes se llevará a cabo a partir de tres estrategias principales:

- Fortalecimiento del análisis de circulación nacional de variantes en establecimientos de salud:

Considerará el estudio genómico a partir de casos hospitalizados de COVID-19 en establecimientos pertenecientes a la red de vigilancia de virus respiratorios, e incluirá a otros centros hospitalarios, centros de la Atención Primaria en Salud (APS) y laboratorios que procesan muestras para SARS-CoV-2.

- Implementación de vigilancia de variantes en grupos especiales:

Para ello se priorizará la secuenciación en los casos de COVID-19 en al menos una de las siguientes situaciones epidemiológicas:

- a. Población con aumento de la incidencia sobre la tendencia esperada en los últimos siete o catorce días, y cuando en la investigación epidemiológica realizada por la SEREMI, se determine que es un aumento no explicado por la transmisibilidad habitual de la enfermedad.
- b. Estudio de brotes en situaciones específicas, donde se detecta mayor severidad o transmisibilidad, y se sospeche una eventual variante viral.

- c. Población vacunada o recuperada de una infección previamente confirmada o cualquier otra situación de no respuesta inmune.
- d. Población con inmunodeficiencia severa o inmunosupresión importante, incluyendo algunos pacientes trasplantados o en inducción de quimioterapia, quienes tienen una mayor probabilidad de desarrollar variantes.
- e. Otras situaciones de alerta, que afecten el control epidemiológico o clínico de la enfermedad.

- Optimización de la pesquisa de variantes en viajeros:

Se considerará la identificación de variantes conocidas en casos de COVID-19, de personas provenientes de fuera del país, que ingresen por vía aérea, marítima o terrestre.

Finalmente, en el siguiente link de nuestro sitio web podrá encontrar el Informe Epidemiológico de Circulación de Variantes de SARS-CoV-2 de Chile, publicado por esta Secretaría de Estado, donde se destaca el aumento de muestras de casos de SARS-COV-2 secuenciados desde marzo a abril (Figura 1), con un total de 1.369 casos secuenciados al 10 de mayo de 2021. Se han identificado 596 casos de SARS-COV-2 de variantes de preocupación, 59 casos de SARS-CoV-2 de variantes de interés en salud pública y 714 casos correspondientes a otros linajes:

<https://www.minsal.cl/nuevo-coronavirus-2019-ncov/informe-epidemiologico-covid-19/>

A la espera de haber cumplido los requerimientos de su solicitud,

Se despide afectuosamente,



**DR. ENRIQUE PARIS MANCILLA**  
MINISTRO DE SALUD

|                                      |     |    |
|--------------------------------------|-----|----|
| Subsecretaría de Salud Pública       | 200 |    |
| Jefatura Gabinete Ministro           | 200 |    |
| Asesor Legislativo Gabinete Ministro | 200 |    |
| Jefatura Gabinete SSP                | 200 |    |
| Jefatura Dpto. de Epidemiología      | API | ↑  |
| Jefatura Unidad OIRS                 | FSD | fu |

CTC/FTE

**Distribución:**

- División Jurídico-Legislativa del Ministerio Secretaría General de la Presidencia.
- Gabinete Ministro de Salud.
- Gabinete Subsecretaría de Salud Pública.
- Dpto. de Epidemiología.
- Unidad OIRS.
- Oficina de Partes.



GABINETE MINISTRO DE SALUD  
SUBSECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA  
DIVISIÓN JURÍDICA  
PDN / JORB / ESTB / JAR / JHG / YVB



## APRUEBA PROYECTO DE VIGILANCIA GENÓMICA DE SARS-COV-2

RESOLUCIÓN EXENTA N° 403 /

SANTIAGO, 27 ABR 2021

**VISTO** lo dispuesto en el artículo 19 N° 9 de la Constitución Política de la República; en el Código Sanitario; en el artículo 1 y 4, del decreto con fuerza de ley N° 1, de 2005, del Ministerio de Salud, que fija el texto refundido, coordinado y sistematizado del decreto ley N° 2.763, de 1979, y de las leyes N° 18.933 y N° 18.469; en el Reglamento Sanitario Internacional, promulgado a través del decreto supremo N° 230, de 2008, del Ministerio de Relaciones Exteriores; en el decreto supremo N° 136, de 2004, del Ministerio de Salud, Reglamento Orgánico del Ministerio de Salud; en el decreto N° 4, de 2020, del Ministerio de Salud, que decreta Alerta Sanitaria por el período que se señala y otorga facultades extraordinarias que indica por Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional (ESPII) por brote del nuevo coronavirus (2019-NCOV), modificado por el decreto N° 1, de 2021, del Ministerio de Salud, que prorroga su vigencia; en el decreto supremo N° 104, de 2020, del Ministerio del Interior y Seguridad Pública, que declara estado de excepción constitucional de catástrofe, por calamidad pública, en el territorio de Chile, prorrogado por los decretos supremos N° 269, N° 400 y N° 646, de 2020, y N° 72, de 2021, de la misma cartera de Estado; en la resolución N° 7, de 2019, de la Contraloría General de la República que fija normas sobre exención del trámite de toma de razón; y

### CONSIDERANDO,

1. Que, al Ministerio de Salud le compete ejercer la función que le corresponde al Estado de garantizar el libre e igualitario acceso a las acciones de promoción, protección y recuperación de la salud y de rehabilitación de la persona enferma; así como coordinar, controlar y, cuando corresponda, ejecutar tales acciones.
2. Que, esta Cartera de Estado debe efectuar la vigilancia en salud pública y evaluar la situación de salud de la población. En el ejercicio de esta función, le compete mantener un adecuado sistema de vigilancia epidemiológica y control de enfermedades transmisibles y no transmisibles, investigar los brotes de enfermedades y coordinar la aplicación de medidas de control.

3. Que, a esta Cartera le corresponde velar porque se eliminen o controlen todos los factores, elementos o agentes del medio ambiente que afecten la salud, la seguridad y el bienestar de la población.
4. Que, como es de público conocimiento, a partir de la segunda quincena de diciembre de 2019 hasta la fecha se ha producido un brote mundial del virus denominado coronavirus-2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) que produce la enfermedad del coronavirus 2019 o COVID-19.
5. Que, con fecha 30 de enero de 2020, el Director General de la Organización Mundial de la Salud, en adelante OMS, declaró que el brote de COVID-19 constituye una Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional (ESPII), de conformidad a lo dispuesto en el artículo 12 del Reglamento Sanitario Internacional, aprobado en nuestro país por el decreto supremo N° 230, de 2008, del Ministerio de Relaciones Exteriores.
6. Que, el 11 de marzo de 2020 la OMS concluyó que el COVID-19 puede considerarse como una pandemia.
7. Que, hasta la fecha, a nivel mundial, más de 143 millones de personas han sido confirmadas con la enfermedad, produciéndose más de 3 millones de fallecidos.
8. Que, en Chile, hasta la fecha, más de 1,1 millón de personas han sido diagnosticadas con COVID-19, existiendo más de 25 mil personas fallecidas contagiadas por la enfermedad.
9. Que, el 5 de febrero de 2020, este Ministerio dictó el decreto N° 4, que decreta Alerta Sanitaria por el período que se señala y otorga facultades extraordinarias que indica por Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional (ESPII) por brote del nuevo coronavirus (2019-NCOV). Dicho decreto fue modificado por los decretos N° 6, N° 10, N° 18, N° 19, N° 21, N° 23, N° 24 y N° 28, todos de 2020, y N° 1 y 12, de 2021, todos del Ministerio de Salud.
10. Que, con fecha 18 de marzo de 2020, Su Excelencia el Presidente de la República declaró estado de excepción constitucional de catástrofe, por calamidad pública, en el territorio de Chile, en virtud del decreto supremo N° 104, de 2020, del Ministerio del Interior y Seguridad Pública.
11. Que, la aparición de nuevas variantes que aumentan la transmisión del virus y su virulencia, o disminuyen la acción de los anticuerpos neutralizantes, generados por infección natural o vacunas, representan un problema de salud pública relevante.
12. Que, ejecutar una estrategia de vigilancia genómica es, por tanto, necesaria para abordarlo.

13. Que, si bien cierto nivel de vigilancia está ya incorporado en la red de vigilancia de virus respiratorios del Instituto de Salud pública (ISP) y otras instituciones que han desarrollado esta área, se requiere ampliar y fortalecer las capacidades existentes, para cumplir con los objetivos, desde un enfoque de salud pública.
14. Que, por lo señalado anteriormente y en uso de las facultades que me confiere la ley:

## RESOLUCIÓN

1. **APRUÉBASE** el documento denominado "Proyecto de Vigilancia Genómica de SARS-CoV-2", cuyo texto se adjunta y forma parte de la presente resolución, el que consta de 23 páginas, todas ellas visadas por la Jefa de la División de Planificación Sanitaria.

El texto aprobado se mantendrá en poder de la División de Planificación Sanitaria, de la Subsecretaría del Ministerio de Salud, la que deberá asegurar que sus copias y reproducciones sean idénticas al texto original que se aprueba por este acto.

2. **PUBLÍQUESE**, por División de Planificación Sanitaria, el texto íntegro del "Proyecto de Vigilancia Genómica de SARS-CoV-2", y el de la presente resolución en el sitio [www.minsal.cl](http://www.minsal.cl), a contar de la total tramitación de esta última.
3. **REMÍTASE** un ejemplar de "Proyecto de Vigilancia Genómica de SARS-CoV-2", a los Servicios de Salud, a las Secretarías Regionales Ministeriales del país y al Instituto de Salud Pública.

## ANÓTESE Y COMUNÍQUESE



**DR. ENRIQUE PARIS MANCILLA**  
**MINISTRO DE SALUD**

### DISTRIBUCIÓN:

- Instituto de Salud Pública
- Jefe de Gabinete Ministro de Salud
- Jefa de Gabinete Subsecretaría de Salud Pública
- Directores de los Servicios de Salud del país
- Secretarías Regionales Ministeriales de Salud del país
- Jefe de División de Planificación Sanitaria
- División Jurídica
- Oficina de Partes





## PROYECTO DE FORTALECIMIENTO DE VIGILANCIA GENÓMICA PARA SARS-COV-2 EN CHILE.

8 abril 2021

### ANTECEDENTES

La aparición de nuevas variantes que aumentan la transmisión del virus y su virulencia, o disminuyen la acción de los anticuerpos neutralizantes, generados por infección natural o vacunas, representan un problema de salud pública relevante. Ejecutar una estrategia de vigilancia genómica es, por tanto, necesaria para abordarlo. Si bien cierto nivel de vigilancia está ya incorporado en la red de vigilancia de virus respiratorios del Instituto de Salud pública (ISP) y otras instituciones que han desarrollado esta área, se requiere ampliar y fortalecer las capacidades existentes, para cumplir con los objetivos, desde un enfoque de salud pública.

Para maximizar el impacto de las actividades de secuenciación del SARS-CoV-2 la OMS ha entregado orientaciones específicas a los laboratorios para el desarrollo de programas de secuenciación genómica. Hasta la fecha el intercambio temprano de las secuencias del genoma del virus SARS-CoV-2 ha permitido el desarrollo de pruebas de diagnóstico y ha mejorado la preparación para el diseño de las medidas de control. La secuenciación rápida del virus a nivel mundial ha contribuido a comprender mejor la dinámica de la epidemia y evaluar las medidas tomadas.

El virus SARS-CoV-2 se ha clasificado dentro del género *Betacoronavirus* (subgénero *Sarbecovirus*), perteneciente a la familia *Coronaviridae*. Este virus, a diferencia de otros virus ARN, tiene la capacidad de corregir errores durante el proceso de replicación, por lo que presenta menores tasas de mutaciones comparado con otros como influenza o VIH. A pesar de eso, a medida que el SARS-CoV-2 se ha extendido por el mundo, ha acumulado mutaciones en el genoma viral, las que han sido examinadas para su caracterización y comprensión de sus implicancias epidemiológicas. El estudio de la evolución del SARS-CoV-2 a fin de descubrir oportunamente sustituciones, inserciones o deleciones que puedan influir fenotípicamente, es crucial para afrontar la dinámica de la pandemia en Chile y el mundo.

La publicación de la secuencia genética completa del SARS-CoV-2 a principios de enero de 2020 facilitó la caracterización del nuevo virus e hizo posible que en poco tiempo se desarrollaran pruebas diagnósticas, tratamientos y vacunas. Desde la identificación inicial del SARS-CoV-2, hasta el 8 de marzo del 2021, se han compartido, a nivel mundial, más de 714.514 secuencias genómicas completas a través de bases de datos de dominio o de acceso público. El estudio filogenético y el análisis filodinámico ha permitido identificar cambios en relación al SARS-CoV-2, incluyendo la detección de variantes o linajes en distintas áreas geográficas del mundo.

Según la última actualización epidemiológica de la OPS/OMS, tres variantes del SARS-CoV-2 han sido identificadas como variantes *de preocupación* (VOC por sus siglas en inglés) para la salud pública: la VOC 202012/01 linaje B.1.1.7, la variante P.1 linaje B.1.1.28.1 y la variante 501.V2 linaje B.1.351 (OPS/OMS 24/03/21). Sin embargo, la vigilancia actualmente no se limita a estas tres.

La emergencia de nuevas variantes puede influir en los métodos de diagnóstico, en las terapias disponibles, en la carga y severidad de la enfermedad o incluso en la respuesta vacunal, por lo cual mantener una adecuada vigilancia epidemiológica es crucial. La reducción de la capacidad de neutralización de alguna de estas nuevas variantes podría desencadenar eventos de reinfección y baja respuesta a la cepa vacunal o afectación de la inmunidad innata de los individuos. Por tanto, la investigación de los procesos evolutivos unido al estudio epidemiológico del virus puede aportar información muy relevante para orientar la respuesta a los brotes por SARS-CoV-2, y también para futuras enfermedades emergentes asociadas a otros patógenos que puedan representar un problema de salud pública. La utilidad de los datos de secuencias genéticas, especialmente en el contexto de una pandemia por COVID-19, es evidente, y por eso en todo el mundo se está implementando o fortaleciendo los programas de secuenciación con fines de salud pública, o vigilancia genómica.

El 14 de diciembre del 2020 el Reino Unido (UK) notificó la detección de una variante del virus SARS-Cov-2 denominada SARS-CoV-2 VOC 202012/01, cuyas características biológicas y epidemiológicas indicaban la presencia de un nuevo linaje viral, llamado B.1.1.7. Esta variante tiene una mutación en la región de unión al receptor de la proteína *Spike*, reemplazando un aminoácido asparagina por una tirosina. Estudios preliminares indicaron que esta variante era más transmisible que otras, con un potencial estimado de aumento del número reproductivo (R) de 0,4 y de transmisibilidad de hasta un 50%. Estudios recientes han documentado que las personas infectadas con esta variante SARS-CoV-2 VOC 202012/01 (B.1.1.7) tienen un mayor riesgo de fallecer que las personas infectadas con otras variantes. Hasta el 23 de marzo, 125 países/territorios a nivel global han reportado importación de la variante SARS-CoV-2 VOC 202012/01, y 28 países/territorios en las Américas han notificado casos, incluyendo Chile.

Otra variante de relevancia internacional es la llamada P.1 de linaje B.1.1.28.1. El 9 de enero de 2021 Japón notificó a la OMS sobre esta nueva variante de SARS-CoV-2, detectada en cuatro viajeros procedentes de Brasil. Esta variante no tiene relación con la variante británica y había sido identificada en Brasil en diciembre de 2020, específicamente en Manaus, Estado de Amazonas. La variante P.1 tiene 17 mutaciones únicas, incluidas tres en el dominio de unión al receptor de la proteína *Spike*: K417T, E484K y N501Y. La mutación llamada D614G, presente en la variante P1 y también en B.1.1.7 y B.1.351, aumenta la capacidad de propagarse más rápidamente que los virus sin la mutación. Existe evidencia que sugiere que algunas de las mutaciones en la variante P.1 pueden afectar su transmisibilidad y perfil antigénico, lo que a su vez podría afectar la capacidad de respuesta de los anticuerpos, generados a través de una infección natural previa o mediante vacunación, pero aún se necesitan estudios adicionales.

Durante los últimos meses, se registró un aumento de la variante P.1 en Manaus, Brasil, de un 52,2% de los casos tipificados de SARS-CoV-2 en diciembre de 2020 a un 85.4% en enero del 2021. Estos datos son coincidentes con un aumento en la carga y mortalidad por COVID-19 en Brasil, situación alertada por la OMS a los países y territorios vecinos. Hasta el 23 de marzo de 2021, 41 países/territorios han notificado casos de variante P.1 linaje B.1.1.28.1, de ellos 15 de las Américas.

A medida que ha ido evolucionando la pandemia también se han ido descubriendo nuevas variantes denominadas *de interés* (VOI, por sus siglas en inglés). En el incremento de variantes se debe tener en cuenta las limitaciones de los sistemas de vigilancia, la capacidad de los países y territorios para secuenciar y las diferencias en los métodos de selección de las muestras a analizar. La mayor parte de los datos de secuencias genéticas proceden de países de altos ingresos, liderando Reino Unido la tasa de secuenciación. En muchas de las variantes de interés se desconoce su impacto en la transmisión viral, en la severidad de la enfermedad o en la inmunidad de los individuos susceptibles. Un ejemplo de VOI es la variante P.2, notificada el 12 de enero de 2021, la cual contiene una de las mutaciones más relevantes en E484K, compatible con la reducción de la capacidad de neutralización. Esta variante ha presentado una dispersión geográfica en Rio de Janeiro, Brasil, y casos aislados en otros países relacionados con viajeros, como Chile.

Dentro de otras variantes reportadas se encuentra la B.1.525 (Nigeria), con mutaciones en E484K, F888L, 69-70 del, Q677H, compatibles con la reducción de la capacidad de neutralización, y con dispersión en Dinamarca, Reino Unido, Países Bajos, Noruega, y Estados Unidos. Se ha reportado la variante B.1.429 (California) (CAL.20C), con mutaciones L425R, S13I, W152C compatibles con aumento de la transmisión viral. En relación a esta variante se describió un fuerte aumento de casos entre los meses de noviembre y diciembre 2020 en el sur de California. La variante B.1.526 (Nueva York) presenta mutaciones en E484K, A701V D253G compatibles con reducción de la capacidad de neutralización. La variante C.16 tiene mutaciones relevantes en L425R asociada con una posible reducción de la capacidad de neutralización y con una expansión geográfica en Portugal desde noviembre 2020. La variante A.23.1, presenta mutaciones en F157L, V367F, Q613H, P681R compatibles con aumento de la transmisión, detectados principalmente en Reino Unido y con escasos casos notificados en otros países. En Finlandia, apareció la variante Fin-796H, la cual presenta mutaciones similares a las observadas en B.1.17 y B.1.351. En reportes iniciales sobre esta última variante se alertaba sobre una posible menor sensibilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (por sus siglas en inglés RT-PCR), pero ha sido descartado.

El 22 de diciembre del 2020 en Chile, gracias al sistema de monitoreo y testeo dirigido a viajeros procedentes de países de riesgo, se detectó el primer caso sospechoso de la variante de SARS-CoV-2 VOC 202012/01, en base a una muestra tomada en aeropuerto Arturo Merino Benítez (AAMB) en Santiago; el 28 de diciembre del 2020 fue confirmado mediante un estudio de secuenciación realizado por el Instituto de Salud Pública (ISP). Por otra parte, el 30 de enero del 2021 se identificó la primera importación de un caso COVID-19 positivo con la variante P.1 también confirmado por secuenciación genómica realizada en el ISP.

El Ministerio de Salud (MINSAL) realiza la vigilancia epidemiológica de las enfermedades de notificación obligatoria, entre ellas la de influenza y otros virus respiratorios, además de participar del Sistema Global de Respuesta y Vigilancia de la influenza (GISRS, por sus siglas en inglés), aportando a través de su vigilancia centinela Infecciones Respiratorias Agudas Graves (IRAG) con datos y análisis de muestras clínicas que permiten la vigilancia genómica de la influenza.

El ISP como miembro del GISRS participa del monitoreo que se realiza durante todo el año detectando las cepas circulantes de influenza en nuestro país. A través de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, Atlanta, USA), que actúa como centro colaborador de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se vigila la circulación del virus a nivel mundial para determinar los cambios en su genoma, así la caracterización genética de los virus de influenza proporciona información para la composición de vacuna, monitoreo de resistencia a antivirales y la vigilancia de los virus circulantes, por lo tanto, ha contribuido a la mitigación de la enfermedad.

## JUSTIFICACIÓN

En función de los antecedentes expuestos y según las recomendaciones de la OMS para el desarrollo de la secuenciación genómica de SARS-CoV-2 con objetivos de Salud Pública, se hace indispensable fortalecer la vigilancia genómica de SARS-CoV-2, enfatizando en que esta contribuye a una mejor respuesta a la pandemia por la COVID-19, al facilitar el seguimiento de la propagación geográfica y temporal del virus y la detección temprana de mutaciones que podrían influir en la virulencia, la transmisión, carga o las medidas de respuesta, incluyendo vacunas, terapias y pruebas diagnósticas. Además, el registro rápido de las secuencias del SARS-CoV-2 en bases de datos públicas, como GISAID<sup>1</sup>, permite a la comunidad científica y a los tomadores de decisión su uso con fines de salud pública.

La red de vigilancia genómica mundial de SARS-CoV-2 busca fortalecer la capacidad de secuenciación de los laboratorios participantes como el ISP, y estimular a los países a implementar la vigilancia genómica de rutina. El objetivo es aumentar la cantidad de datos de secuenciación disponibles a nivel global para apoyar el desarrollo de protocolos de diagnóstico, generar información para el desarrollo de vacunas y entender mejor los patrones de evolución y epidemiología molecular de SARS-CoV-2. Las recomendaciones vigentes de la OMS sugieren secuenciar un 10% de las muestras recolectadas en establecimientos de vigilancia centinela de Enfermedad Tipo Influenza (ETI), y entre un 5% al 10% de los resultados positivos en Infecciones Respiratorias Agudas (IRA) o Infecciones Respiratorias Agudas Graves (IRAG). Actualmente, los países o estados miembros de la Comunidad Europea han sugerido alcanzar al menos el 5% de las muestras positivas, tomar acciones que minimicen el retraso en los resultados y garanticen que los casos se informen de forma comparable.

Según la OMS, los **objetivos de la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2**, con fines de salud pública, son los siguientes:

1. Identificar el SARS-CoV-2, como agente causal de la enfermedad.
2. Elaborar pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2.
3. Sustentar el desarrollo de tratamientos y vacunas.
4. Investigar el origen del SARS-CoV-2 y la fecha de la transmisión inicial al ser humano.
5. Evaluar y mejorar la comprensión del fenómeno de reinfección.
6. Distinguir la infección prolongada de la reinfección en un individuo.
7. Evaluar la repercusión del SARS-CoV-2 en:
  - a. La modificación del comportamiento vírico (cambio fenotípico), por ejemplo, la tasa de transmisión o patogenicidad.

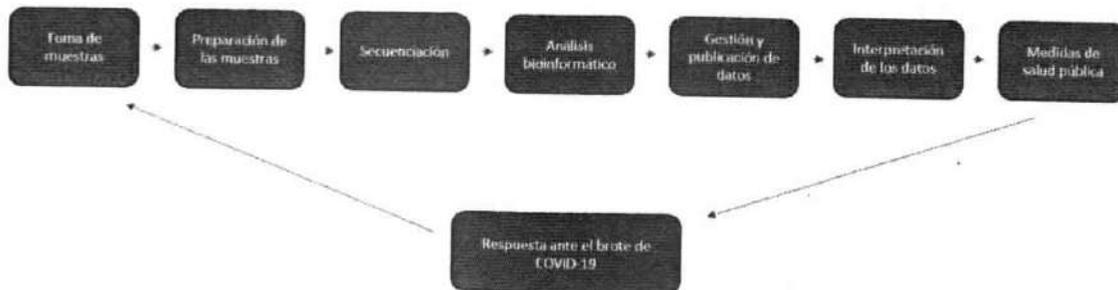
---

<sup>1</sup> La Iniciativa GISAID promueve el intercambio rápido de datos de todos los virus de la influenza y el coronavirus que causa el COVID-19. Esto incluye la secuencia genética y datos clínicos y epidemiológicos relacionados asociados con virus humanos, y datos geográficos y específicos de especies asociados con virus aviáres y otros virus animales, para ayudar a los investigadores a comprender cómo evolucionan y se propagan los virus durante epidemias y pandemias. <https://www.gisaid.org>

- b. La inmunidad por infección natural o vacunación.
  - c. Las pruebas diagnósticas moleculares, serológicas o antigénicas.
  - d. Los tratamientos como anticuerpos monoclonales.
8. Seguir la circulación y la actividad de virus mediante:
- a. Investigación de la propagación geográfica y la reintroducción entre poblaciones.
  - b. Investigación de brotes en determinados entornos y poblaciones, por ejemplo, hospitales.
  - c. Rastreo de la reintroducción zoonótica, de otras especies al ser humano o viceversa.
  - d. Monitoreo de las aguas ambientales y residuales.
  - e. Apoyo a la vigilancia convencional cuantificando el periodo de transmisión, evaluando sus factores y determinando el grado de trasmisión en la población.

La OMS ha recomendado el siguiente **flujo de trabajo**, para la secuenciación del genoma completo de SARS-CoV-2, para la respuesta al brote de COVID-19:

Figura N° 1: Flujo de proceso de secuenciación del SARS-CoV-2



Fuente: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338892/WHO-2019-nCoV-genomic\\_sequencing-2021.1-spa.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338892/WHO-2019-nCoV-genomic_sequencing-2021.1-spa.pdf)

## **PROPÓSITOS Y OBJETIVOS**

### **Propósito:**

Fortalecer la vigilancia genómica de SARS-CoV-2 e integrarla como un componente del sistema de vigilancia en salud pública, en el marco de la pandemia de COVID-19, a través de una alianza estratégica de instituciones públicas y privadas afines en Chile.

### **Objetivos:**

1. Identificar oportunamente la emergencia o circulación de nuevas variantes de SARS-CoV-2 a través de vigilancia en centros de salud, en grupos especiales y en puntos de entrada al país.
2. Determinar la propagación geográfica y temporal de variantes de SARS-CoV-2 en el país.
3. Estimar el potencial impacto de las nuevas variantes en transmisibilidad, severidad y en la efectividad de las intervenciones para el manejo de la enfermedad.

## **ALCANCE**

Este proyecto se inserta en la estructura del Sistema de Salud en Chile, según sus áreas de competencia abarcando al Ministerio de Salud, Secretarías Regionales Ministeriales de Salud, Servicios de Salud, Instituto de Salud Pública, red de laboratorios para la Vigilancia Genómica de SARS-CoV-2, además de otras instituciones colaboradoras.

## **MARCO LEGAL**

El reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de notificación obligatoria, aprobado a través del Decreto Supremo N° 7 del 12 de marzo de 2019, establece en su artículo 1° la notificación obligatoria inmediata de cualquier sospecha de infección respiratoria aguda grave inusitada. Además, cualquier enfermedad de causa desconocida de presunto origen infeccioso, como es el COVID-19 está sujeta a notificación obligatoria e inmediata. Este mismo reglamento establece en el artículo 5°, que la influenza y otros virus respiratorios son agentes de vigilancia de laboratorio, entre los cuales se considera el virus SARS-CoV-2.

El ISP es responsable de la vigilancia de Influenza y virus respiratorios, y laboratorio de referencia nacional y regional, así como laboratorio regional de secuenciación a nivel de las Américas, perteneciente a la red Regional de Vigilancia Genómica de SARS-CoV-2.

En la implementación de este componente de la vigilancia del SARS-CoV-2, se debe asegurar a través de todos los niveles e instituciones participantes el buen trato al usuario.

Igualmente, en cumplimiento de lo dispuesto en los artículos 12 y 13 de la ley N° 20.584 que regula los derechos y deberes que tienen las personas en relación con acciones vinculadas a su atención en salud y los artículos 2 y 10 de la ley N° 19.628 sobre protección de la vida privada se resguardará la confidencialidad de los datos sensibles. Lo mismo se aplicará respecto a la información que se compartirá con las redes de vigilancia genómica internacional, lo que deberá hacerse por mecanismos que aseguren la integridad, resiliencia, seguridad en el acceso y transmisión de la información.

La publicación de secuencias genómicas y metadatos se realizará de manera anonimizada.

## **PLAN DE VIGILANCIA GENÓMICA**

La vigilancia genómica estará basada en la detección de casos de COVID-19 y la posterior selección de muestras positivas para la secuenciación genética, según criterios de relevancia epidemiológica expresados en el numeral 2 de este acápite, priorizando las muestras de pacientes hospitalizados o pertenecientes a centros de salud, grupos especiales y viajeros. Esto se realizará por medio de la red de laboratorios de virus respiratorios, el ISP, y otras instituciones colaboradoras.

La selección de muestras será debidamente justificada, explicitando las razones por las que se eligieron para la secuenciación, ya que la validez de los análisis genéticos, como los filogenéticos o filodinámicos, puede verse afectada por la inclusión de muestras no aleatorias o representativas.

La pesquisa de nuevas variantes se realizará a partir de tres estrategias principales:

### **1- Fortalecimiento del análisis de circulación nacional de variantes en establecimientos de salud:**

Esto considerará el estudio genómico a partir de casos hospitalizados de COVID-19 en establecimientos pertenecientes a la red de vigilancia de virus respiratorios, que incluye los establecimientos centinelas para IRAG (en una primera etapa), e incluirá a otros centros hospitalarios, centros de la Atención Primaria en Salud (APS) y laboratorios que procesan muestras para SARS-CoV-2.

### **2- Implementación de vigilancia de variantes en grupos especiales:**

Se priorizará la secuenciación en los casos de COVID-19 en al menos una de las siguientes situaciones epidemiológicas:

- a. Población con aumento de la incidencia sobre la tendencia esperada en los últimos siete o catorce días, y cuando en la investigación epidemiológica realizada por la SEREMI, se determine que es un aumento no explicado por la transmisibilidad habitual de la enfermedad;

- b. Estudio de brotes en situaciones específicas, donde se detecta mayor severidad o transmisibilidad, donde se sospeche una eventual variante viral;
- c. Población vacunada o recuperada de una infección previamente confirmada o cualquier otra situación de no respuesta inmune;
- d. Población con inmunodeficiencia severa o inmunosupresión importante, incluyendo algunos pacientes trasplantados o en inducción de quimioterapia, quienes tienen una mayor probabilidad de desarrollar variantes.
- e. Otras situaciones de alerta, que afecten el control epidemiológico o clínico de la enfermedad.

### **3- Optimización de la pesquisa de variantes en viajeros:**

Se considerará la identificación de variantes conocidas en casos de COVID-19, de individuos provenientes desde fuera del país, que ingresen por vía aérea, marítima o terrestre.

## **IMPLEMENTACIÓN DE ESTRATEGIAS**

### **1- Fortalecer el análisis de circulación nacional de variantes en establecimientos de salud:**

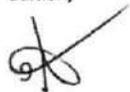
Considera aumentar la capacidad de análisis de los laboratorios y el número de muestras analizadas en la red de hospitales para la vigilancia de laboratorio de virus respiratorios. En una primera etapa se priorizarán muestras de casos confirmados que cumplan los requisitos establecidos por el ISP, incluyendo los hospitales pertenecientes a la red de vigilancia del ISP de Arica, Iquique, Antofagasta, Valparaíso, Rancagua, Talca, Chillán, Concepción, Temuco, Valdivia, Coyhaique, Punta Arenas y San Juan de Dios en Santiago.

Junto con incorporar a universidades y el Consorcio de Genomas de CoV-2 u otras alianzas estratégicas, se podrá acudir a la compra de servicios externos para aumentar la capacidad semanal de secuenciación, conforme las facultades ordinarias y extraordinarias establecidas para estos efectos. También se incluirán muestras provenientes de centros de salud de la atención primaria (APS) y otros establecimientos hospitalarios, con representación regional.

Para esta estrategia se usó el tamaño muestral recomendado por la OMS del 10 o 5 % del total de nuevas infecciones diarias, en 3 escenarios de casos y se estimó la confianza de dichos escenarios según los umbrales considerados por APHL (Association of Public Health Laboratories, por sus siglas en inglés) para la detección de variantes nuevas del virus de influenza en estación alta correspondiente al 0.14% de circulación<sup>2</sup>, ver tabla 1.

---

<sup>2</sup> Association of Public Health Laboratories. 2013. Influenza Virologic Surveillance Right Size Sample Calculators: User Guide. 1<sup>st</sup> Edition, July, 2013.



Las predicciones se basan en la tasa de ataque mensual observada para cada provincia y grupo de edad entre mayo y diciembre de 2020, en la proyección de la población para cada comuna y grupo etario para el 2021. Se consideran los siguientes tres escenarios:

**1.- Escenario de baja incidencia:** En este escenario se asume que la tasa de ataque mensual promedio será igual al tercer cuartil de las tasas de ataque observadas en cada grupo en el 2020. Bajo este escenario se proyecta un número total de 433.324 casos durante el primer semestre, lo que equivale a un promedio de **16.852 casos nuevos por semana**.

**2.- Escenario de incidencia intermedia:** En este escenario se asume que la tasa de ataque mensual promedio será igual al percentil 95% de las tasas de ataque observadas en cada grupo en el 2020. Bajo este escenario se proyecta un número total de 919.557 casos durante el primer semestre, lo que equivale a un promedio de **35.761 casos nuevos por semana**.

**3.- Escenario de incidencia alta:** En este es escenario se asume la circulación importante de variantes nuevas del virus SARS-CoV-2, tal como la encontrada en UK y para la que se ha reportado una transmisibilidad mayor (40% a 70% mayor)<sup>3</sup>. En este escenario se asume que las variantes nuevas tendrán en promedio una transmisibilidad 70% mayor en relación con las circulantes en el país durante el año 2020 y que representarán el 60% de la carga viral circulante. Además, se asume que la tasa de ataque mensual promedio de las variantes ya existentes será igual al percentil 95% de las tasas de ataque observadas en cada grupo en el 2020. Bajo este escenario se proyecta un número total de 1.305.876 casos durante el primer semestre, lo que equivale a un promedio de **52.781 casos nuevos por semana**.

**Tabla 1. Tamaño muestral si se secuenciase el 5% o 10% del total de casos sintomáticos, y confianza lograda cuando la proporción de casos explicados por una variante nueva es de 0.14%.**

| Cantidad de casos por semana | Secuenciación del 5% del total de casos sintomáticos |                   | Secuenciación del 10% del total de casos sintomáticos |                   |
|------------------------------|--|-------------------|---|-------------------|
|                              | Muestras por semanas                                 | Confianza lograda | Muestras por semanas                                  | Confianza lograda |
| 16.852                       | 843  | 70.94             | 1685  | 92.10             |
| 35.761                       | 1.788  | 92.74             | 3576  | 99.54             |
| 52.781                       | 2.639  | 97.92             | 5278  | 99.96             |

<sup>3</sup> <https://www.who.int/csr/don/21-december-2020-sars-cov2-variant-united-kingdom/en/>

## **2- Implementación de variantes en situaciones especiales:**

Es importante pesquisar variantes de preocupación o de interés para la salud pública, en situaciones especiales definidas en este documento, para incrementar la eficiencia y oportunidad de la detección de nuevas variantes u otros efectos asociadas a estas en el país. A continuación, se especifican con mayor detalle estas situaciones especiales:

**2.1 Casos institucionales:** en lugares o ámbitos tales como instituciones, establecimientos educacionales, empresas, donde se haya detectado una alta incidencia que se presenta en forma súbita o con una severidad inusitada ante la sospecha de variantes de preocupación o interés.

**2.2 Brotes de magnitud o severidad inesperada:** en contextos epidemiológicos que no se han relacionado necesariamente con nuevas variantes. En los estudios de brotes asociados a variantes de interés o preocupación no será necesario secuenciar las muestras de todos los expuestos, sino una muestra para confirmar la transmisión de la misma.

**2.3 Personas post vacunadas:** en personas que han recibido un esquema de vacunación completa, en las que han transcurrido más de 14 días desde la administración de la última dosis predefinida y que presentan un episodio de infección por SARS-CoV-2. Se considerará la secuenciación genómica cuando existe nexa epidemiológico con lugares o ámbitos donde se haya descrito una alta incidencia de variantes de preocupación o de interés, y se hayan descartado otras condiciones que expliquen la no efectividad de la vacuna.

**2.4 Comportamiento clínico no esperado:** puede considerarse el estudio genómico en casos individuales con comportamiento clínico no esperado por su gravedad.

**2.5 Presentación de brotes no controlados en personas con infección confirmada por SARS-CoV-2 que reciben tratamiento con plasma de convaleciente o anticuerpos monoclonales y no responden al mismo, así como en pacientes que presenten una inmunosupresión severa como antecedente.**

**2.6 Otras situaciones de interés de salud pública consideradas en esta estrategia son:**

- Aumento de la incidencia o severidad de casos en niños, niñas o adolescentes (NNA) en las últimas dos semanas en regiones o comunas del territorio nacional.
- Detección de grupos de casos o proporción de casos graves, hospitalizaciones o ingresos a UCI en personas menores de 60 años, que no presentan condiciones de salud concomitantes o comorbilidades.

## **3- Refuerzo de vigilancia genómica en situación de viajeros:**

El foco de interés en estos casos es la detección de variantes ya reportadas en el extranjero. Por tanto, se realizará un estudio para la determinación de variantes en todos quienes presenten un resultado positivo a un examen diagnóstico de COVID-19, durante los primeros 14 días desde su



llegada al país. El examen específico se determinará según las necesidades y disponibilidad técnica, e incluye el uso de RT-PCR específica o secuenciaciones parciales.

#### **Técnicas de estudio genómico:**

##### **a) Secuenciación genómica completa:**

Se podrá ampliar los servicios de determinación de secuenciación completa para muestras positivas de SARS-CoV-2 a otros laboratorios, los cuales deberán entregar la información al ISP y subir a GISAID con la metadata comprometida.

El ISP es el ente rector y quien aprueba tanto los protocolos de secuenciación como a los laboratorios que serán parte de la Red Nacional de Vigilancia Genómica, de acuerdo a lo establecido en el *anexo 1*.

- La secuenciación genómica debe realizarse de forma planificada, incluyendo un número representativo de casos de todas las regiones del país.
- Se seleccionará un número de muestras de forma aleatoria y representativa, tanto de la atención hospitalaria como de la APS. En esta selección se debe tener en cuenta que no todas las muestras procedan del mismo origen, por ejemplo, formar parte de un mismo brote.

##### **b) RT-PCR para variantes**

Se realizará la ampliación de servicios para la determinación de variantes mediante secuenciación del gen de la spike segmento S o a través de RT-PCR a laboratorios que la realicen, al menos para B.1.1.7; P1 y B.1.351 (requerimientos que se ajustarán según la evolución molecular del virus). Estas deberán ser entregadas directamente a los laboratorios que realizan la determinación.

Este tipo de técnica permite detectar mutaciones puntuales, lo que sugiere la presencia de una variante, es decir funciona como *screening* o tamizaje. Estos laboratorios deben contar con la constatación de capacidad diagnóstica por parte del ISP para PCR SARS-CoV-2.

Es importante destacar que no se sabe cuánto tiempo van a circular estas variantes por lo que las técnicas deben ser lo suficientemente flexibles como para modificar las variantes a analizar por RT-PCR, de acuerdo a lo que se detecte en el tiempo.

Se adjunta en *anexo 2*, el instructivo para la toma y envío de muestras a ISP para estudio genético, las cuales se deben cumplir a cabalidad.

**Tabla 2. Técnicas de laboratorios según estrategia de vigilancia genómica**

| <b>Estrategia</b>    | <b>Técnica</b>   | <b>Productos</b>   |
|----------------------|--|--|
| Circulación Nacional | Secuenciación completa y algunos con secuenciación parcial o RT-PCR para variantes | -Número de casos con secuenciación completa                                  |
| Grupos Especiales    | Secuenciación completa   | -Número de casos con secuenciación completa                                  |
| Viajeros             | RT-PCR variante o Secuenciación parcial/completa                                   | -Número de viajeros positivos<br>-Número de casos con secuenciación completa |

## REPORTES ESPERADOS

### De los laboratorios que son parte de la Red de Vigilancia

Todas las semanas los laboratorios deben informar: número de muestras recibidas, amplificadas, secuenciadas y su correspondiente genotipificación, esta información debe ser reportada de forma individualizada por RUN al Departamento de Epidemiología del MINSAL y al ISP, además todas las secuenciaciones deben ser subidas a la plataforma GISAID.

En caso de que se detecte una nueva variante, se debe dar aviso inmediato al ISP, y al Departamento de Epidemiología del MINSAL. A su vez, el ISP consolidará la información y elaborará una base de datos con las secuenciaciones y la enviará al Departamento de Epidemiología del MINSAL.

### Del Departamento de Epidemiología del MINSAL

El Departamento de Epidemiología debe al menos dos veces al mes elaborar un informe de la vigilancia genómica que dé cuenta de los objetivos de este documento.

## INDICADORES

Se establecerán indicadores de proceso y resultados para identificar cambios en la tendencia, gravedad o incidencia de COVID-19 según los criterios de salud pública recomendados por OMS, que pueden advertir sobre una posible circulación de una nueva variante. La información obtenida a través de las tres estrategias debe tener como objetivo la toma de decisiones de salud pública, por lo que el sistema debe ser oportuno y centralizado, con agilidad entre la obtención de muestras y su análisis, teniendo en cuenta las capacidades disponibles.

**Tabla 3. Indicadores para el monitoreo del Programa**

| Estrategia   | Indicador   |
|--|---|
| Fortalecimiento del análisis de circulación nacional de variantes en establecimientos de salud | <ul style="list-style-type: none"> <li>Número de muestras semanales enviadas por establecimientos de salud, respecto del total de muestras comprometidas para su envío.</li> </ul>  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Número de muestras recibidas por laboratorio que amplifican por establecimiento, respecto a total de muestras recibidas.</li> </ul>  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Número de muestras provenientes de Hospitales centinelas IRAG, respecto a total de muestras recibidas por el ISP.</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Número de muestras positivas para variantes, respecto del total de muestras analizadas por los laboratorios.</li> </ul>  |
| Implementación de vigilancia de variantes en grupos especiales                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>Estimación del umbral de detección de una nueva variante, con 95% de confianza a nivel nacional. (cada dos semanas)</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Número de muestras secuenciadas por cada grupo especial.</li> <li>Número de muestras positivas para variantes, en grupos especiales, respecto del total de muestras analizadas.</li> </ul> |
| Refuerzo de vigilancia genómica en situación de viajeros                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>Número de muestras positivas por PCR, en viajeros, respecto del total de muestras analizadas.</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Número de muestras procesadas por RT-PCR variantes, con resultado positivo para variantes, provenientes de viajeros, sobre el total de muestras procesadas.</li> </ul>                     |



## ANEXO 1

### PROTOCOLO PARA INTEGRAR LA RED NACIONAL DE VIGILANCIA GENÓMICA DE SARS-CoV-2

#### 1. Registro de capacidades de secuenciación del genoma del SARS-CoV-2

En una primera etapa los laboratorios que se integrarán a la red de vigilancia del ISP en la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2, deberán considerar los siguientes aspectos:

- Tener experiencia reciente y demostrable en cualquiera de las plataformas de NGS (Next Generation Sequencing) que se detallan más adelante (Illumina, Nanopore). Para ello, se solicitará el envío de archivos de análisis de calidad de lecturas (FastQC) de 3 corridas realizadas durante el período noviembre 2019 - marzo 2021.
- La secuenciación debe realizarse en los laboratorios de la red en el país y no tercerizar en el extranjero. Por tratarse de una vigilancia activa, considera oportunidad de respuesta con tiempos acotados.
- Los laboratorios de secuenciación deben trabajar en coordinación directa con los laboratorios de diagnóstico, de modo de disponer de las muestras de ARN directamente, lo cual reduce los riesgos del trabajo con las muestras originales, además de disminuir los tiempos de procesamiento de éstas. Para cumplir con estos fines, ambos deberán estar en la misma ciudad. De no ser así, se deberá enviar la muestra original (muestras respiratorias, hisopado nasofaríngeo). Además, se deben disponer de los espacios físicos que cumplan con los estándares de bioseguridad en cada etapa del proceso (recepción e ingreso de muestras, procesamiento y extracción de ácidos nucleicos, manejo de residuos y conservación de las muestras).
- El laboratorio deberá disponer de áreas exclusivas para el trabajo con las muestras de SARS-CoV-2, como se describe en el documento "Recomendaciones para laboratorios que realizan la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): Áreas y Flujos" (sala limpia de preparación, sala sucia de carga de ácidos nucleicos), así como de un área para la preparación de librerías y equipamiento para secuenciación (Anexo 1.1 Requerimientos de áreas y equipamientos).
- Del punto anterior, y junto con los requerimientos de infraestructura acorde al nivel de bioseguridad requerido, es necesario contar con personal auxiliar, técnico y profesional debidamente capacitado para realizar las labores con el máximo estándar de calidad y seguridad.
- Cada laboratorio puede seleccionar una de las plataformas y estrategias de NGS que sean de su competencia o de la que tengan acceso a los reactivos y kits respectivos, de acuerdo con el listado de técnicas aprobados por el ISP e internacionalmente validados, la cual se adjunta en este documento (Anexo plataformas y kits de secuenciación.)
- Cada laboratorio deberá realizar el análisis bioinformático del producto de la secuenciación, junto con identificar los parámetros de calidad de cada corrida, generar el correcto ensamble del genoma

y determinación de los clados/linajes de cada una de las muestras, de acuerdo con las nomenclaturas adoptadas por la plataforma GISAID.

- Una vez obtenido el genoma completo de SARS-CoV-2 de las muestras enviadas a cada laboratorio de genómica, se deberá enviar al MINSAL y al ISP un reporte que incluya una tabla con nombre de paciente, fecha de toma de muestra, clados y linajes obtenidos. Para ello se utilizarán mecanismos que aseguren la confidencialidad, integridad, resiliencia, seguridad en el acceso y transmisión de la información

- Cada laboratorio deberá incorporar las secuencias obtenidas a la plataforma GISAID con la metadata comprometida. Cualquier resultado obtenido del análisis de las mutaciones en las secuencias que indique alguna sospecha de una nueva variante chilena, deberá ser comunicada al MINSAL y al ISP, de forma inmediata.

## 2. Proceso de registro y validación

Cuando un nuevo laboratorio para análisis de genomas completos de SARS-CoV-2 cuente con las capacidades instaladas, las condiciones y el equipamiento para poder operar, se deberá iniciar el proceso de constatación de la metodología de secuenciación en el ISP de acuerdo a las siguientes instrucciones:

- Desde MINSAL se informará al ISP la necesidad de constatar la capacidad genómica del laboratorio, estableciendo contacto para iniciar el proceso con los profesionales de las casillas ([jfernand@ispch.cl](mailto:jfernand@ispch.cl), [sulloa@ispch.cl](mailto:sulloa@ispch.cl) [vramirez@ispch.cl](mailto:vramirez@ispch.cl)).

- El ISP entregará de forma directa al laboratorio todas las indicaciones y requisitos para desarrollar este proceso mediante correo electrónico, con copia a los profesionales del Ministerio de Salud que sirvan de apoyo en el proceso de instalación. Además, solicitará los procedimientos analíticos del laboratorio.

La validación de los resultados de la secuenciación del genoma de SARS-CoV-2 deberá realizarse de acuerdo a los siguientes criterios:

- El laboratorio que implementa la técnica de secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 envía a profesionales contacto en ISP, un informe con resultados de la implementación con muestras de rutina. Además, deberá facilitar los archivos *fastq*, secuencias de consenso (resultado final) de 10 muestras del total analizadas para su revisión y observaciones, junto con el procedimiento realizado a Jorge Fernández ([jfernand@ispch.cl](mailto:jfernand@ispch.cl)) y Soledad Ulloa ([sulloa@ispch.cl](mailto:sulloa@ispch.cl)).

- Adicionalmente deberá enviar por correo electrónico copia de sus procedimientos relacionados al proceso analítico.

-Una vez realizadas todas las pruebas y análisis solicitados por ISP, se realizará la evaluación de los antecedentes, documentos e informes entregados por el laboratorio. De ser aprobado, el ISP constatará la capacidad de secuenciación del laboratorio, emitiendo un documento que deje constancia de la autorización de la capacidad de secuenciación del genoma del SARS-CoV-2, y

entregando la facultad de poder entrar en operación e informar resultados de muestras analizadas. En el caso de ser rechazado, se realizará un acompañamiento para mejorar las falencias de la técnica y se solicitarán nuevamente los antecedentes necesarios para una nueva evaluación.

- El ISP informará por correo electrónico a jefatura o director técnico del laboratorio con copia a la Jefatura del Departamento de Epidemiología de la Subsecretaría de Salud Pública, para informar inicio de funcionamiento.

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized, cursive script.



### ANEXO 1.1. Requerimientos de áreas y equipamientos

| TIPO DE ÁREA | ÁREA  | REQUERIMIENTO                    |   |
|--------------|---|----------------------------------|---|
| LIMPIA       | PREPARACIÓN DE REACTIVOS (PRE-PCR) – Amplificación genoma | MICROCENTRÍFUGA TUBOS            | ✓ |
| LIMPIA       | PREPARACIÓN DE REACTIVOS (PRE-PCR) – Amplificación genoma | CABINA DE PCR                    |   |
| LIMPIA       | PREPARACIÓN DE REACTIVOS (PRE-PCR) – Amplificación genoma | JUEGO DE MICROPIPETAS            |   |
| LIMPIA       | PREPARACIÓN DE REACTIVOS (PRE-PCR) – Amplificación genoma | VÓRTEX                           |   |
| SUCIA        | DISPENSACIÓN DE TEMPLADO (CARGA) – Amplificación genoma   | MICROCENTRÍFUGA TUBOS            |   |
| SUCIA        | DISPENSACIÓN DE TEMPLADO (CARGA) – Amplificación genoma   | CABINA DE PCR                    |   |
| SUCIA        | DISPENSACIÓN DE TEMPLADO (CARGA) – Amplificación genoma   | JUEGO DE MICROPIPETAS            |   |
| SUCIA        | DISPENSACIÓN DE TEMPLADO (CARGA) – Amplificación genoma   | VÓRTEX                           |   |
| SUCIA        | AMPLIFICACIÓN Y DETECCIÓN PCR – Amplificación genoma      | TERMOCICLADOR                    |   |
| SUCIA        | AMPLIFICACIÓN Y DETECCIÓN PCR – Amplificación genoma      | CAPTURADOR IMAGEN ELECTROFORESIS |   |
| LIMPIA       | Preparación de librerías para NGS                         | MICROCENTRÍFUGA TUBOS            |   |
| LIMPIA       | Preparación de librerías para NGS                         | JUEGO DE MICROPIPETAS            |   |
| LIMPIA       | Preparación de librerías para NGS                         | VÓRTEX                           |   |
| SUCIA        | Preparación de librerías para NGS                         | TERMOCICLADOR                    |   |
| SUCIA        | Preparación de librerías para NGS                         | ANALIZADOR DE FRAGMENTOS         |   |
| SUCIA        | Preparación de librerías para NGS                         | FLUORÍMETRO                      |   |
| SUCIA        | Secuenciación Genoma Completo mediante NGS                | SECUENCIADOR                     |   |



## ANEXO 1.2 Plataformas y kits de secuenciación

|  |                  |  |   |
|--|------------------|--|---|
| ARTIC Network SARS-CoV-2                               | ARTIC            | Gold standard Amplicon sequencing protocol for SARS-CoV-2 v3   | <a href="https://artic.network/ncov-2019">https://artic.network/ncov-2019</a>   |
| AmpliSeq for Illumina SARS-CoV-2 Research Panel        | Illumina         | This research panel contains 247 amplicons in 2 pools targeting the SARS-CoV-2 genome. The panel includes >99% coverage of the Coronavirus genome (~30kb) and covers all potential serotypes.  | <a href="https://www.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/community-panels/sars-cov-2.html">https://www.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/community-panels/sars-cov-2.html</a>   |
| Illumina COVIDSeq Test                                 | Illumina         | The Illumina COVIDSeq Test can be scaled up or down to accommodate different numbers of samples. 1536 to 3072 results can be processed in 12 hours on NovaSeq 6000 system using two SP or S4 reagent kits, respectively or 384 results in 12 hours using NextSeq 500/550/550Dx (in RUO mode) HO reagent kit  | <a href="https://www.illumina.com/products/by-type/ivd-products/covidseq.html">https://www.illumina.com/products/by-type/ivd-products/covidseq.html</a>   |
| CleanPlex® SARS-CoV-2 Panel                            | Paragon Genomics | This amplicon-based SARS-CoV-2 NGS panel is designed for COVID-19 Coronavirus research and surveillance, enabling complete genome sequencing of the new SARS-CoV-2 virus responsible for the COVID-19 pandemic. This panel is specific for Illumina Sequencing platforms. The other version is available for MGI sequencing platforms. For high throughput labs, we now have up to <u>2,688 dual-indexed PCR primer combinations (56 x 48 indexes)</u> for pooling up to 2,688 samples onto a single Illumina flowcell.  | <a href="https://www.paragongenomics.com/product/cleanplex-sars-cov-2-panel/">https://www.paragongenomics.com/product/cleanplex-sars-cov-2-panel/</a>   |
| NEBNext® ARTIC SARS-CoV-2 Library Prep Kit (Illumina®) | NEB              | The NEBNext® ARTIC kits were developed in response to the critical need for reliable and accurate methods for SARS-CoV-2 sequencing. These kits, for long and short read sequencing, were based on the original work of the ARTIC Network (1). The ARTIC SARS-CoV-2 sequencing workflow is a multiplexed amplicon-based whole-viral-genome sequencing approach.  | <a href="https://international.neb.com/products/e7650-nebnext-artic-sars-cov-2-library-prep-kit-illumina#Product%20Information_Related%20Products">https://international.neb.com/products/e7650-nebnext-artic-sars-cov-2-library-prep-kit-illumina#Product%20Information_Related%20Products</a>   |
| NGSeq ARTIC SARS-CoV-2 (96 reactions)                  | Eurofins         | Kit for reverse transcription of total sample RNA into cDNA followed by selective, enriching PCR-based amplification of the full SARS-CoV-2 genome using ARTIC primers, that consist of over 200 primer pairs, covering the entire SARS-CoV-2 viral genome (29.9kb). Applicable for several NGS platforms. SARS-CoV-2 is encoded by a positive-sense, single-stranded RNA molecule that can be mixed with host RNA during isolation from a sample. The service includes reverse transcription of the RNA into cDNA, enrichment of the viral genome by using ARTIC V3 primers (consisting of over 200 primer pairs, covering the full 29.9 kb viral genome), generation of high quality libraries and sequencing. | <a href="https://www.eurofins-technologies.com/ngseq-artic-sars-cov-2.html">https://www.eurofins-technologies.com/ngseq-artic-sars-cov-2.html</a>   |
| Collibri Next-Generation Sequencing of SARS-CoV-2      | ThermoFisher     | optimized protocol for Invitrogen Collibri Library Prep Kits for Illumina™ Systems to sequence SARS-CoV-2 samples provides strong coverage and sensitive variant detection. It is compatible with all Illumina NGS systems.  | <a href="https://www.thermoFisher.com/cl/es/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/ngs-library-preparation-illumina-systems/collibri-applications/viral-surveillance/protocol-sars-cov-2.html?cid=fl-sarscov2-collibri">https://www.thermoFisher.com/cl/es/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/ngs-library-preparation-illumina-systems/collibri-applications/viral-surveillance/protocol-sars-cov-2.html?cid=fl-sarscov2-collibri</a> |



## ANEXO 2

### INSTRUCTIVO OBTENCION Y TRASLADO DE MUESTRA RESPIRATORIAS (TORULA NASOFARINGEA/ELUIDO) PARA SECUENCIACION

#### 1. OBJETIVO

Obtención de células epiteliales, del tracto respiratorio, para la posterior identificación por RT-PCR del virus SARS-CoV-2, y derivación de casos positivos con Ct menor a 25 a secuenciación.

#### 2. MATERIALES y REACTIVOS

##### 2.1 Materiales:

- Tórulas de dacrón o polipropileno flexible
- Tubos con Medio de Transporte Viral
- Guantes
- Mascarilla N95
- Protección Ocular
- Delantal
- Contenedor de material contaminado.

##### 2.2 Reactivos:

- Recipiente con solución desinfectante (Hipoclorito 1 %)

#### 3. DESARROLLO

Colocar al paciente con la cabeza ligeramente inclinada hacia atrás. Inmovilizar en esa posición.

Introducir la tórula o hisopo por el piso de la fosa nasal hasta tocar la pared posterior de la faringe hacer girar suavemente la tórula en esa posición, cuidando de obtener la mayor cantidad posible de células epiteliales.

Colocar la tórula en el tubo con medio de transporte cuidando que quede sumergida en el líquido

Eliminar el material usado en el contenedor de material contaminado.

La muestra recolectada debe ser enviada al laboratorio debidamente identificada en el menor tiempo posible y debe mantenerse refrigerada hasta su llegada al laboratorio.

Las muestras deben ser procesadas idealmente dentro de un gabinete de bioseguridad y transportadas según medidas de bioseguridad para muestras biológicas.

#### 4. ENVÍO DE MUESTRAS

Una vez realizada la extracción de la muestra mantener los eluidos congelados.

Si se confirma el caso como SARS-CoV-2 por RT-PCR y si el Ct es menor de 25 la muestra debe enviarse al Laboratorio donde se realizará la secuenciación y en un plazo de 72 horas como máximos asegurándose que se mantenga la cadena de frío y el triple embalaje requerido.

Si el laboratorio de secuenciación está en la misma ciudad que el laboratorio enviar el eluido congelado

Las muestras recolectadas/ eluidos deben ser enviados debidamente rotuladas y acompañarse del formulario de IRA grave, que se encuentra disponible en el siguiente enlace, [https://formularios.ispch.cl/docPDF/EXT/formulario\\_14\\_IRA\\_grave.pdf](https://formularios.ispch.cl/docPDF/EXT/formulario_14_IRA_grave.pdf)

El envío de muestras sospechosas al laboratorio por vía aérea debe garantizar el cumplimiento de todas las normas internacionales (IATA) para sustancias biológicas categoría B.

## REFERENCIAS

1. Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV), 2020 (<https://talk.ictvonline.org/>, consultado el 27 de julio de 2020).
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Reinfection with SARS-CoV-2: considerations for public health response. Estocolmo: Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades, 2020 (<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Re-infection-and-viral-shedding-threat-assessment-brief.pdf>)
8. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Variantes de SARS-CoV-2 en las Américas. 24 de marzo de 2021, Washington, D.C. OPS/OMS. 2021 <https://www.paho.org/es/documentos/actualizacion-epidemiologica-variantes-sars-cov-2-americas-24-marzo-2021>
9. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Ocurrencia de variantes SARS-CoV-2 en las Américas. 26 de enero de 2021, Washington, D.C. OPS/OMS. 2021. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/actualizacion-epidemiologica-ocurrencia-variantes-sars-cov-2-americas-26-enero-2021>
10. Centers for Disease Control and Prevention. Emerging SARS-CoV-2 Variants. CDC, 28 de enero de 2021. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/scientific-brief-emerging-variants.html>
11. Organización Mundial de la Salud. Nota Técnica: Caracterización genómica del SARS-CoV-2 y variantes circulantes en la Región de las Américas. <https://www.paho.org/es/file/75571/download?token=T-ZTNBly>
12. Ministerio de Salud de Chile, Departamento de Epidemiología. Reporte de Circulación de variantes SARS-CoV-2 en Chile, 26/3/2021. <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2021/03/Reporte-circulacion-variantes-26-0>
13. Organización Mundial de la Salud. Secuenciación genómica del SARS-CoV-2 para objetivos de salud pública: Orientación provisionales, 8 de enero de 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-genomic-sequencing-2021.1>
14. World Health Organization. Global Influenza, GISRS. Operational considerations to expedite genomic sequencing component of GISRS surveillance of SARS-CoV-2. OMS. 17 February 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-genomic-sequencing-GISRS-2021.1>
15. EUROPEAN COMMISSION. Brussels, 19.1.2021 COM(2021) 35 final. COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT, THE EUROPEAN COUNCIL AND THE COUNCIL A united front to beat COVID-19.

<https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2021/EN/COM-2021-35-F1-EN-MAIN-PART-1.PDF>

16. Ministerio de Salud de Chile. Decreto Supremo N°7/2019 del 12 de marzo de 2019: Aprueba reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de declaración obligatoria y su vigilancia
17. Organización Panamericana de la Salud. Orientaciones para la selección de muestras de SARS-CoV-2 para caracterización y vigilancia genómica,. 9 febrero 2021. <https://www.paho.org/es/documentos/orientaciones-para-seleccion-muestras-sars-cov-2-para-caracterizacion-vigilancia>
18. World Health Organization. (2021). Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health, 8 January 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240018440>
19. Instituto de Salud Pública: Formulario de registro para envío de muestras para secuenciameinto. <http://formularios.ispch.cl/Generales/Ingresar.aspx?>
20. Instituto de Salud Pública de Chile. ORD C/Nº 02011 23 de octubre de 2020: Recomendaciones recolección y envío muestras estudio genético SARS-CoV-2. <https://www.ispch.cl/sites/default/files/2011-05%20%20SEGUN%20DISTRIBUCION%20RECOMENDACIONES%20RECOLECCION%20Y%20ENVIO%20MUESTRAS%20ESTUDIO%20GENETICO%20SARS-COV-2.pdf>