

Secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 con fines de salud pública

Orientaciones provisionales

8 de enero de 2021



Mensajes clave:

- La vigilancia mundial de las secuencias genéticas del SARS-CoV-2 y de los metadatos conexos sirve de apoyo a la respuesta ante el brote de COVID-19. Facilita el seguimiento de la propagación geográfica y temporal del SARS-CoV-2 y la pronta detección y evaluación de mutaciones que puedan influir en el poder patógeno o la transmisión del virus o en las medidas de respuesta adoptadas (como las vacunas, el tratamiento y las pruebas diagnósticas).
- Aunque el costo y la complejidad de la secuenciación genética se han reducido notablemente, un programa eficaz de secuenciación sigue requiriendo una inversión considerable en personal, equipo, reactivos e infraestructura bioinformática. Asimismo, es imprescindible la colaboración si se desea producir datos de buena calidad y emplearlos de manera provechosa.
- Se alienta a los países a que consignent sin demora las secuencias del SARS-CoV-2 en bases de datos públicas para que la comunidad científica pueda utilizarlas con fines de salud pública. Invertir en una red escalonada de secuenciación del SARS-CoV-2 de ámbito mundial permitirá elaborar programas internacionales de secuenciación sólidos y de calidad para detectar y afrontar otros brotes de patógenos que puedan producirse en el futuro.

Antecedentes

En el último decenio, los datos de las secuencias genéticas de los patógenos han adquirido un papel crucial en la detección y el manejo de los brotes de enfermedades infecciosas, contribuyendo al desarrollo de pruebas diagnósticas, medicamentos y vacunas y orientando la respuesta sanitaria (1–11). La irrupción del nuevo coronavirus, que más tarde pasó de denominarse coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave de tipo 2 (SARS-CoV-2), ha venido a subrayar la importancia de los datos de secuencias genéticas. En el transcurso de un año desde la primera identificación del SARS-CoV-2, se han registrado más de 280 000 secuencias genómicas completas en bases de datos de acceso público (12). La inmediatez del análisis de los datos ha repercutido en gran medida en la respuesta de salud pública (12–16). En el cuadro 1 se muestran los objetivos de la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 con fines de salud pública.

La utilidad de los datos de secuencias genéticas para la salud pública resulta cada vez más evidente y, por ello, en todo el mundo se está invirtiendo en centros y programas de secuenciación. Aunque la disminución del costo y de la complejidad de la generación de datos de secuencias genéticas facilita el aumento de la capacidad de secuenciación, su generalización sigue constituyendo un reto. Existe una gran desigualdad en el mundo en cuanto a capacidad de secuenciación del SARS-CoV-2, y la mayor parte de los datos de secuencias genéticas proceden de países de ingresos altos.

Cuadro 1. Objetivos de la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 con fines de salud pública.

Actividades que no requieren muchos recursos y para cuyo seguimiento no es necesaria la secuenciación o solo ocasionalmente	Actividades que requieren la prosecución de la labor de secuenciación durante un periodo más prolongado	
<ul style="list-style-type: none">- Identificar el SARS-CoV-2 como agente causal de la enfermedad.- Elaborar pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2.- Sustentar el desarrollo de tratamientos y vacunas.- Investigar el origen del SARS-CoV-2 y la fecha de la transmisión inicial al ser humano (en curso).- Reinfeción:<ul style="list-style-type: none">• Evaluar y mejorar la comprensión de este fenómeno.• Distinguir la infección prolongada de la reinfeción en un individuo.	Evolución del SARS-CoV-2 y sus repercusiones en: <ul style="list-style-type: none">- la modificación del comportamiento vírico (cambio fenotípico), por ejemplo, la tasa de transmisión o el poder patógeno;- la inmunidad (por infección natural o vacunación);- las pruebas diagnósticas (moleculares, serológicas o antigénicas);- los tratamientos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales).	Seguimiento de la circulación y la actividad del virus: <ul style="list-style-type: none">- Investigar la propagación geográfica y la reintroducción entre poblaciones.- Investigar los brotes en determinados entornos y poblaciones (por ejemplo, en hospitales).- Rastrear la reintroducción zoonótica, de otras especies al ser humano o viceversa.- Vigilar las aguas ambientales y residuales.- Apoyar la vigilancia convencional cuantificando el periodo de transmisión, evaluando sus factores y determinando el grado de transmisión en la población.

Finalidad del presente documento

En el presente documento se brindan orientaciones a los responsables políticos de ámbito nacional y a las partes interesadas para que, ante el avance de la pandemia, obtengan el máximo provecho posible de la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 en beneficio de la salud pública, a corto y largo plazo. En él se plantean consideraciones prácticas para la puesta en marcha de un programa de secuenciación de genomas víricos y se examinan los objetivos de la secuenciación genómica con fines de salud pública. Si bien las presentes orientaciones se refieren al SARS-CoV-2, son aplicables a otros patógenos que pueden representar un problema de salud pública. Se recomienda a los países que deseen adquirir capacidad de secuenciación del SARS-CoV-2 que aprovechen para elaborar un plan más amplio de desarrollo de la capacidad de detección y seguimiento de patógenos de importancia para la salud pública.

Otras orientaciones de la OMS

La OMS ha elaborado la guía de aplicación [Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health](#) (Secuenciación del genoma del SARS-CoV-2: guía de aplicación para potenciar su repercusión en la salud pública) en colaboración con expertos en secuenciación de todo el mundo. Dicha guía contiene información más completa sobre la secuenciación del SARS-CoV-2 y está dirigida a quienes se ocupan de poner en marcha programas de secuenciación (17). En ella se examinan a fondo sus diversos usos y se ofrecen recomendaciones técnicas sobre la secuenciación de patógenos en el contexto de la pandemia de COVID-19. Además de consultar estos y otros documentos publicados, es conveniente que los laboratorios con poca experiencia en secuenciación se ofrezcan a colaborar con laboratorios experimentados y se adhieran a redes de laboratorios con competencia técnica en secuenciación o creen sus propias redes.

1. Introducción al SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 se ha clasificado dentro del género *Betacoronavirus* (subgénero *Sarbecovirus*), perteneciente a la familia *Coronaviridae* (18). Se trata de un virus encapsulado con ácido ribonucleico (ARN) de cadena sencilla en sentido positivo, cuyo genoma consta de 30 kb aproximadamente (19). La secuenciación genética permite leer el genoma de un virus. Con este método se pueden descubrir nuevos patógenos (como ha sucedido en el caso del SARS-CoV-2), ya que cada organismo posee una secuencia genómica exclusiva (20). El genoma del SARS-CoV-2 codifica proteínas no estructurales, cuatro proteínas estructurales (la espícula [S], la envoltura [E], la membrana [M] y la nucleocápside [N]) y proteínas presuntamente accesorias (21–23). Para penetrar en la célula hospedadora, el SARS-CoV-2 se vale de la proteína S (espícula), que se acopla al receptor ACE2 (enzima convertidora de la angiotensina 2) de la célula (24–27). La proteína de la espícula del SARS-CoV-2, en particular el dominio de unión al receptor, constituye un elemento crucial para la inmunidad, ya sea innata o vacunal (28–32). La diversificación del gen que codifica dicha proteína podría, por tanto, influir en la eficacia de las vacunas y de los tratamientos con anticuerpos monoclonales, así como en la inmunidad innata (33).

Cuando los virus se replican, en especial los virus de ARN como el SARS-CoV-2, se producen cambios (mutaciones) en su genoma. Una mutación adquirida puede perpetuarse en las poblaciones de SARS-CoV-2 si no conlleva desventajas evolutivas. Se estima que la tasa actual de evolución del SARS-CoV-2 es de 1×10^{-3} sustituciones nucleotídicas por sitio y año (34), lo que equivale aproximadamente a una sustitución en el genoma cada dos semanas (35). Se trata de una tasa relativamente baja, lo que limita la resolución temporal de los contagios individuales (35). El estudio de la evolución del SARS-CoV-2 a fin de descubrir con prontitud sustituciones, inserciones o deleciones que puedan repercutir en las propiedades del virus (cambio fenotípico) es una labor importante para el seguimiento de la epidemia. Uno de los frutos más patentes de esa labor es la detección de mutaciones que puedan modificar la tasa de transmisión o el poder patógeno del virus o mermar la utilidad de las medidas de respuesta médica (pruebas diagnósticas, vacunas y tratamientos). El seguimiento geográfico y temporal de las mutaciones del virus puede ayudar asimismo a rastrear su propagación y a conocer mejor las posibles vías y la dinámica de transmisión. La historia evolutiva de un patógeno se puede reconstruir mediante análisis filogenético. Este, al igual que el análisis filodinámico (es decir, la investigación de los procesos epidemiológicos y evolutivos que moldean la filogenia del virus), puede aportar gran cantidad de información que sirva para orientar la respuesta ante los brotes.

2. Determinar el enfoque óptimo para la secuenciación del SARS-CoV-2 en el contexto local

2.1 Establecimiento de prioridades respecto de los objetivos y el enfoque de la secuenciación en función del contexto

Aunque el costo de la secuenciación génica se ha reducido notablemente en los últimos decenios, la inversión en recursos (económicos, infraestructurales y humanos) no deja de ser considerable. Antes de iniciar un proyecto de secuenciación, es fundamental plantearse si es realmente necesario para alcanzar un objetivo determinado o si existen otros medios eficaces más rápidos y menos costosos. Resultará útil determinar si la secuenciación del virus basta para conseguir el objetivo propuesto o si se requiere un enfoque multidisciplinar que incluya dicha actividad. Las actividades de índole epidemiológica en las que participen analistas de datos genómicos, integrados en los equipos de investigación y respuesta de salud pública, tendrán probablemente mayor repercusión inmediata que aquellas en las que el análisis de genomas víricos se lleve a cabo como labor independiente o secundaria.

Si los recursos disponibles son limitados, tal vez sea conveniente restringir los objetivos del programa de secuenciación a aquellas actividades que puedan mantenerse por su gran interés clínico o epidemiológico. En esos casos, se puede priorizar la secuenciación en las siguientes situaciones: i) personas vacunadas contra el SARS-CoV-2 que se infectan con posterioridad a pesar de una adecuada respuesta inmunitaria a la vacuna; ii) entornos de riesgo, como los de estrecha interacción entre animales y seres humanos y un gran número de animales susceptibles a la infección por SARS-CoV-2 o pacientes inmunodeprimidos con una prolongada excreción vírica, en especial si están recibiendo tratamiento con anticuerpos contra el SARS-CoV-2; iii) aumento o cambio inesperado de la tasa de transmisión o la virulencia del SARS-CoV-2; iv) sospecha de alteración de la eficacia de las pruebas diagnósticas (moleculares, de anticuerpos o de antígenos) o los tratamientos; y v) investigación de conglomerados, si la secuenciación puede ayudar a comprender la transmisión o a evaluar la utilidad de los procedimientos de control de la infección.

En la figura 1 se representan las facetas elementales de la secuenciación. Si no se dispone de suficiente capacidad en las tres facetas, será necesario establecer alianzas con otros grupos a fin de lograr los objetivos de secuenciación. Y si, por el contrario, se dispone de capacidad y recursos suficientes en una o más facetas, puede considerarse la posibilidad de prestar apoyo a otros asociados que estén iniciando sus programas de secuenciación. La demanda de capacidad variará a lo largo de las distintas fases de un brote, por lo que es posible que los laboratorios deban cambiar de estrategia.

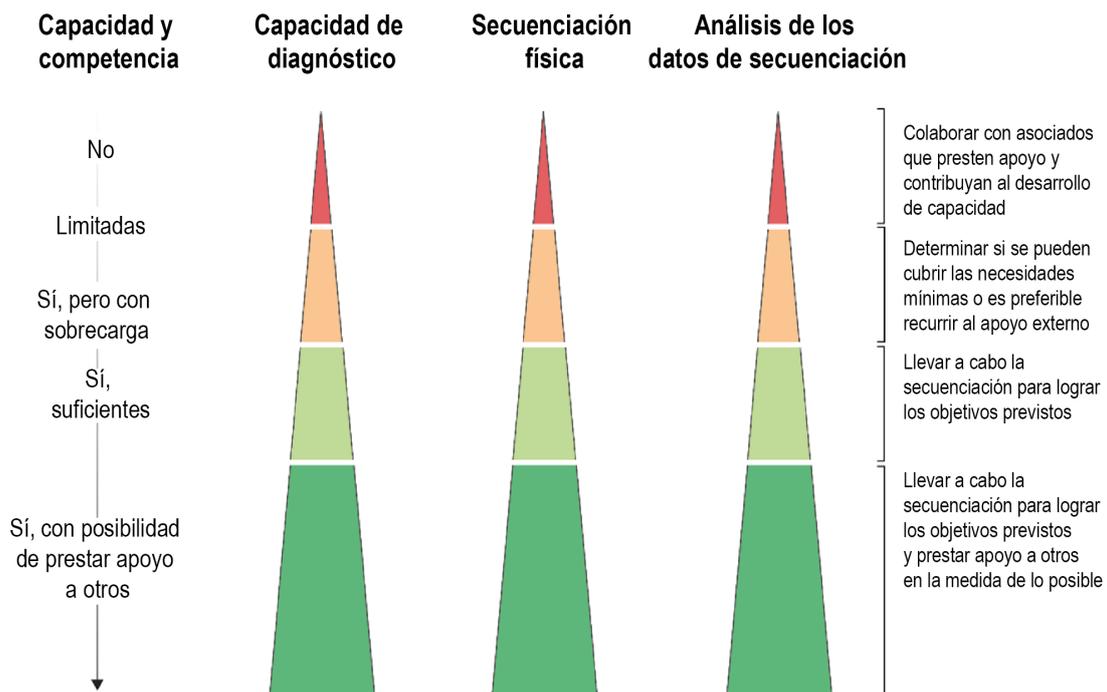


Figura 1. Determinación de las capacidades en cada una de las facetas elementales de la secuenciación con el fin de seleccionar el mejor enfoque para poner en marcha un programa.

2.2 Invertir en capacidad sostenible de secuenciación de alcance mundial para el SRAS-CoV-2 y otros patógenos (emergentes o reemergentes) de importancia para la salud pública

Las redes escalonadas de laboratorios de la OMS, de probada funcionalidad, facilitan la colaboración mundial y se adaptan a las necesidades nacionales y regionales específicas (36–39). La creación de una red mundial de secuenciación igual de potente y resistente puede potenciar la utilidad de la secuenciación del SRAS-CoV-2 y otros patógenos emergentes o reemergentes para la salud pública. En la actualidad, los laboratorios de referencia de la OMS que realizan pruebas de confirmación de la COVID-19 están atendiendo algunas de estas necesidades de secuenciación y análisis (40). Varias regiones disponen de capacidad de secuenciación suficiente para incorporarse a la red mundial de laboratorios y centros de secuenciación o la están adquiriendo. La aportación potencial de un laboratorio a esa red se determina en función de su capacidad en cada una de las facetas representadas en la figura 1. Diversas redes de laboratorios dedicadas a patógenos concretos (como las que trabajan en la resistencia a los antimicrobianos, el MERS-CoV, la gripe, el sarampión, la rubéola, el virus de la poliomielitis y la tuberculosis) han invertido en capacidad de secuenciación en el marco de sus actividades de vigilancia (8, 9, 41–43). Dado que la secuenciación tiene unos costos considerables y que muchas partes de su flujo de trabajo pueden servir para distintos patógenos u objetivos de secuenciación, se alienta la colaboración nacional a fin de aprovechar al máximo la capacidad existente. Los programas de desarrollo de capacidad deben aplicar un método progresivo para crear las competencias necesarias, y las prioridades deben establecerse en función del contexto. En algunos países, puede ser conveniente desarrollar la capacidad de los laboratorios, mientras que, en otros entornos, tal vez sea más práctico subcontratar la secuenciación y centrarse en el aspecto bioinformático y en la gestión e interpretación de los datos. Más adelante, sobre la base de una colaboración eficaz, el intercambio de datos, unos protocolos normalizados de secuenciación, formación y reuniones conjuntas, auditorías, pruebas de competencias (de secuenciación y análisis) y la adopción de normas de referencia para evaluar los procedimientos, podrán diseñarse programas de calidad para la secuenciación del SARS-CoV-2 y la detección y respuesta ante nuevos patógenos emergentes. Si en una red se intercambian muestras, también han de habilitarse mecanismos para que el transporte se realice en condiciones adecuadas.

3. Consideraciones prácticas para la puesta en marcha de un programa de secuenciación de genomas víricos

En esta sección se examinan los requisitos técnicos que debe cumplir un programa de secuenciación. En la guía de aplicación de la secuenciación del SARS-CoV-2 se ofrece información más detallada al respecto (17).

3.1 Consideraciones prácticas que han de tenerse en cuenta al elaborar un programa de secuenciación del SARS-CoV-2

El flujo de trabajo se establecerá atendiendo a los objetivos de la secuenciación (cuadro 1). En el anexo I se facilita una serie de preguntas pertinentes que pueden ser de ayuda en este proceso. El anexo II contiene una lista de verificación con consideraciones útiles para planificar un programa de secuenciación del SARS-CoV-2. En la figura 2 se muestra el flujo de trabajo para la secuenciación del genoma completo del SARS-CoV-2. Todo el personal que intervenga en un programa de secuenciación debe recibir formación e instrucción adecuadas para desempeñar la tarea que se le encomiende. Se debe determinar cuáles son las partes interesadas pertinentes, e implicarlas y consultarlas desde el primer momento. En la elaboración de programas de secuenciación han de intervenir los organismos de salud pública, los laboratorios de diagnóstico, los centros de secuenciación, los grupos de análisis y, según el entorno de que se trate, los equipos de prevención y control de infecciones o los servicios de salud laboral y las asociaciones de defensa de los pacientes, así como, en su caso, las instituciones dedicadas a la investigación de la interacción entre seres humanos y animales. Se deben establecer, y mantener durante todo el proyecto, canales de comunicación adecuados para los objetivos del programa, de modo que se obtenga la mayor utilidad posible de los datos de secuenciación. Es fundamental efectuar evaluaciones periódicas del avance del proyecto y una evaluación final para extraer enseñanzas e introducir las mejoras necesarias. Para alcanzar los objetivos de un programa de secuenciación de patógenos emergentes se requiere la participación de expertos de distintos campos: i) secuenciación en laboratorio y manipulación segura de muestras de virus; ii) generación de genomas fidedignos a partir de los datos brutos; iii) análisis de los genomas para obtener información valiosa y útil a efectos de la respuesta ante los brotes; y iv) patógenos. Es probable que la mayoría de los expertos solo posean competencias en uno o dos campos. Para conseguir resultados con rapidez en las actividades ii) y iii) se requieren potentes recursos informáticos. Por ello, para obtener resultados pronto, precisos y provechosos y que estos tengan una incidencia real en la salud pública, suelen ser determinantes la colaboración entre expertos con distintas competencias y la puesta en común de los recursos.

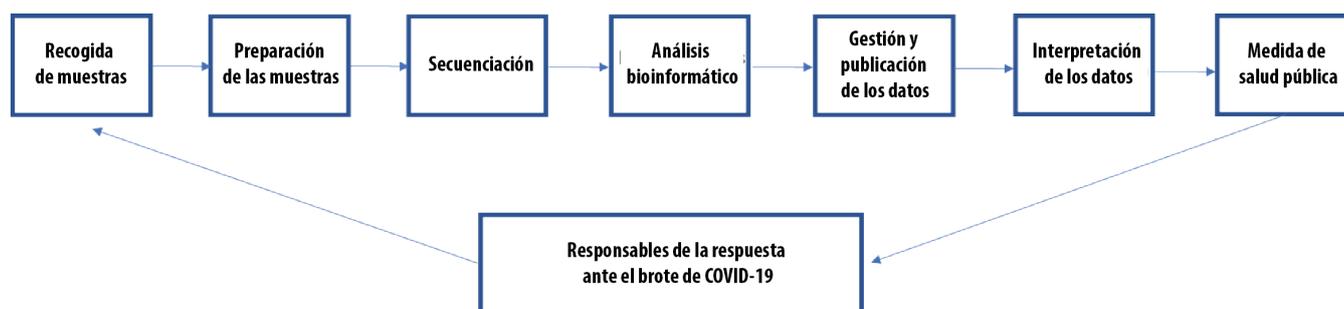


Figura 2. Flujo de trabajo para la secuenciación del genoma completo del SARS-CoV-2. La comunicación recíproca entre los responsables de las distintas fases del flujo de trabajo es imprescindible para que este funcione correctamente. Por ejemplo, es conveniente que quienes se ocupan de seleccionar y preparar las muestras consulten con los encargados de la interpretación de los datos para decidir qué muestras se van a secuenciar.

3.2 Consideraciones éticas

Al diseñar un programa de secuenciación, es importante tener presentes las implicaciones éticas. Se debe determinar el riesgo de perjuicios sociales al que se exponen los participantes en la investigación y elaborar estrategias para mitigarlo. Todo estudio que se proponga ha de ser evaluado y aprobado por un comité de ética, que tendrá en cuenta el valor social, la validez científica, la relación entre riesgos y beneficios, el consentimiento informado y la selección y protección de los participantes (44–46). Si los investigadores no poseen experiencia en la determinación de los problemas éticos que pueda plantear la secuenciación de patógenos causantes de brotes, como el SARS-CoV-2, se alienta encarecidamente la colaboración internacional y la contratación de especialistas (44). La colaboración entre investigadores de todo el mundo debe materializarse en alianzas para la investigación que sean equitativas y beneficien a todas las partes. Se debe exhortar a los investigadores locales a que asuman un protagonismo activo a lo largo del proceso de investigación, ya que suelen conocer bien sus sistemas de atención sanitaria e investigación y pueden lograr que los resultados se traduzcan en políticas (44, 45). En la sección 3.7 se abordan los aspectos éticos de la publicación de secuencias y metadatos genómicos.

3.3 Consideraciones sobre la estrategia de muestreo y la preparación de las muestras

Una vez determinados los objetivos, ha de diseñarse una estrategia de muestreo adecuada con las partes interesadas pertinentes. En la guía de aplicación de la secuenciación del SARS-CoV-2 se ofrece información detallada sobre la obtención de muestras (17). Es conveniente registrar en los metadatos las razones por las que se eligieron las muestras para la secuenciación, ya que la fiabilidad de ciertos análisis genéticos, como los filogenéticos y filodinámicos, puede verse afectada por la inclusión de subconjuntos no aleatorios de muestras. Las orientaciones sobre pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2 contienen indicaciones prácticas acerca de la recogida de muestras clínicas (47). Antes de la secuenciación, se recomienda enriquecer la proporción de material genético del SARS-CoV-2 de la muestra. En esta operación han de adoptarse precauciones con objeto de no contaminar la muestra (17, 48, 49). Los métodos basados en la PCR permiten aumentar de forma rápida, práctica y económica la cantidad de material genético vírico presente en una muestra antes de la secuenciación. Un ejemplo es el desarrollado por la Red ARTIC (51–53). En la guía de aplicación de la secuenciación del SARS-CoV-2 se ofrece información técnica detallada sobre estos métodos, así como orientaciones para elegir el más adecuado según el entorno (17). Una vez enriquecido el material genético del SARS-CoV-2 de la muestra, se pueden preparar las bibliotecas, generalmente mediante protocolos de secuenciación normalizados que resultan adecuados para cualquier virus.

3.4 Consideraciones sobre los laboratorios

Entre las estrategias de secuenciación del SARS-CoV-2 se distinguen aproximaciones dirigidas, que requieren un conocimiento previo de la secuencia genómica, y aproximaciones metagenómicas, que no requieren tal conocimiento (54, 55). En el anexo III se resumen las principales ventajas y limitaciones de las tecnologías de secuenciación de uso habitual. Antes de invertir en capacidad de secuenciación, deben evaluarse los requisitos de las distintas tecnologías en cuanto a dotación de personal y competencias, infraestructura de laboratorio, tiempo de secuenciación, costos, facilidad de uso, tratamiento posterior de los datos, rendimiento (tasa de producción de datos) y precisión de

la secuenciación. El número de muestras que han de analizarse dependerá del objetivo de la secuenciación. Al calcular los costos, no solo hay que tener en cuenta la adquisición del equipo de secuenciación, sino también los gastos periódicos en reactivos y los contratos de mantenimiento y servicios. En las presentes orientaciones no se abordan los costos, pero en la referencia (8) se facilita un amplio resumen elaborado recientemente. Para que la secuenciación rinda resultados fiables, se debe disponer de una infraestructura básica, en particular una conexión a Internet y un suministro eléctrico estables, un entorno apropiado (por ejemplo, sin vibraciones ni polvo y con control y regulación de la temperatura y la humedad en el caso de algunas plataformas) y un registro de las muestras almacenadas. Se deben adoptar medidas adecuadas de bioseguridad y bioprotección. La evaluación de los costos y los requisitos infraestructurales básicos puede ayudar a decidir si la secuenciación se lleva a cabo en el propio centro o si es preferible subcontratarla. La tecnología evoluciona con rapidez, por lo que algunas técnicas quedarán obsoletas o los fabricantes cambiarán de aparatos o reactivos. Antes de acometer una gran inversión, se recomienda averiguar por cuánto tiempo se compromete el fabricante a proporcionar los reactivos, el mantenimiento y la asistencia técnica de las plataformas elegidas. Al planificar un programa, también debe tenerse en cuenta la disponibilidad de reactivos auxiliares y equipo complementario para llevar a cabo la secuenciación (por ejemplo, sistemas automáticos o manuales de extracción e instrumentos para la cuantificación del material genético, la amplificación y la incubación, la purificación de las muestras y el almacenamiento de muestras y reactivos). Los laboratorios encargados de la secuenciación genómica han de poseer capacidad para realizar pruebas de PCR del SARS-CoV-2 con garantía de calidad, certificada por evaluación interna y externa. Asimismo, se deben establecer y vigilar indicadores de calidad para cada etapa del proceso.

3.5 Consideraciones bioinformáticas y computacionales

El equipo informático necesario varía según el enfoque adoptado (véase la guía de aplicación para más detalles) (17). El volumen de datos brutos generados depende del método de secuenciación (véase el anexo III) y de la cantidad de muestras secuenciadas (56). La potencia de computación necesaria para analizar los datos también varía según el objetivo y el método de secuenciación. Por ejemplo, el análisis filogenético y el alineamiento del genoma pueden requerir equipos informáticos de alto rendimiento, en especial si el volumen de datos es grande. Al diseñar la cadena de procedimientos bioinformáticos (*pipeline*) para la secuenciación deben tenerse en cuenta los costos del sistema computacional necesario para el almacenamiento y tratamiento de los datos. Los procedimientos bioinformáticos se determinarán en función de las fases de laboratorio previas a la secuenciación y de la plataforma y los reactivos utilizados. En la guía de aplicación se ofrece una descripción detallada de los procedimientos bioinformáticos (17).

3.6 Consideraciones sobre la denominación y la nomenclatura del virus

Aún no se ha establecido una nomenclatura coherente para el SARS-CoV-2. A falta de una nomenclatura uniforme aceptada, se suelen emplear principalmente tres sistemas. A partir de virus que poseen un ancestro filogenético común, pueden delimitarse linajes o clados. Las iniciativas GISAID y Nextstrain han definido distintos clados filogenéticos en un intento por establecer una clasificación general de la diversidad que circula por el mundo. Rambaut *et al.* han propuesto una nomenclatura dinámica para los linajes de SARS-CoV-2, centrada en los que circulan activamente y en los que se propagan a nuevas zonas (57). Existen programas informáticos que asignan automáticamente las nuevas secuencias a un determinado linaje o clado (58–60). Dada la creciente diversidad de genomas de SARS-CoV-2, cada vez resulta más necesario uniformizar su nomenclatura (57, 61, 62). Pero, mientras no se disponga de una nomenclatura coherente, sería deseable que los linajes o clados se designaran mediante los tres sistemas habituales o que, al menos, se especificara la nomenclatura empleada.

3.7 Publicación de secuencias genómicas y metadatos

Una pronta publicación de los datos de secuencias genéticas del patógeno, junto con los pertinentes metadatos epidemiológicos y clínicos anonimizados, aumentará en gran medida la incidencia de la secuenciación genómica en la respuesta de salud pública (63–65). La amplia difusión de las secuencias de SARS-CoV-2 y de los procedimientos diagnósticos y los protocolos y las muestras de secuenciación ha posibilitado el desarrollo de capacidad de diagnóstico molecular en todo el mundo (66–68). La comunidad médica y científica debe seguir aprovechando la colaboración mundial y la pronta publicación de datos durante el brote de SARS-CoV-2 o ante futuros brotes. Para publicar datos de secuencias genómicas de SARS-CoV-2 se puede optar por dos tipos de bases de datos: las de «dominio público» y las de «acceso público» (69). Las bases de datos de dominio público permiten consultar y utilizar los datos sin necesidad de identificarse; es el caso de las bases de datos de la INSDC, gestionadas por el DDBJ, el EMBL-EBI y el NCBI. En las bases de datos de acceso público, como la de la GISAID, los usuarios deben identificarse para asegurar la transparencia, facilitar la supervisión y proteger los derechos de quienes aportan datos,

y para impulsar la colaboración con estos y que se reconozca su contribución cuando se publiquen resultados. Los ejemplos mencionados son gratuitos y de libre acceso. Al elaborar un proyecto de secuenciación de patógenos, es importante sopesar qué tipo de base de datos es más apropiado para publicar los datos de secuencias genéticas y si son necesarias otras vías (44). El agradecimiento expreso a quienes se encargan de la recogida de muestras clínicas y de la generación de secuencias genómicas del virus resulta esencial para que no se interrumpa la publicación de datos genéticos. Siempre que se utilicen datos de libre acceso se deben citar las fuentes, así como las publicaciones o prepublicaciones conexas si están disponibles.

Los datos de las secuencias, incluidas las de consenso, completas o parciales, y los datos brutos, pueden transmitirse en diversos formatos. Antes de transmitir los datos debe evaluarse minuciosamente su calidad, en particular la posible contaminación con amplicones generados por la PCR. Si se detecta y corrige un error, el laboratorio debe ponerse en contacto con las bases de datos correspondientes a fin de actualizar las secuencias parciales publicadas. Es importante publicar las lecturas brutas de la secuenciación del virus (es decir, los fragmentos del genoma vírico secuenciados, antes de que sean ensamblados para componer un genoma de consenso) porque permiten comparar el efecto de distintos métodos bioinformáticos en la generación del genoma de consenso y facilitan, en su caso, la corrección de errores. Dado el gran tamaño de las bibliotecas secuenciadas, puede que resulte más difícil transmitir los datos de las lecturas en entornos con baja velocidad de carga en Internet o conexión inestable. Debe mantenerse el anonimato del paciente en todos los datos que se transmitan. Para ello, deben filtrarse los datos brutos que contienen lecturas de secuencias humanas de modo que solo se transmitan datos de secuencias genéticas no humanas (es decir, víricas) (43). Para que los datos de secuencias puedan utilizarse en programas filogenéticos, han de transmitirse también los metadatos conexos, como la fecha o el lugar aproximado de obtención de la muestra. No obstante, debe analizarse con detenimiento qué metadatos se pueden publicar sin comprometer el anonimato del paciente.

Los análisis preliminares de los datos de secuencias genéticas suelen enviarse a foros, plataformas o servidores de prepublicaciones (70–72). En las publicaciones, como en todas las de carácter científico, deben indicarse los puntos fuertes y débiles de los análisis efectuados y el modo en que estos han de ser interpretados o presentados por los diversos destinatarios antes de su revisión por especialistas externos. Es importante que los resultados se expliquen con claridad para evitar que sean malinterpretados o utilizados indebidamente.

4. Objetivos de la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2 con fines de salud pública.

A continuación se presentan ejemplos de los principales objetivos de la secuenciación del SARS-CoV-2 con fines de salud pública. En la guía de aplicación de la secuenciación del SARS-CoV-2 se ofrecen descripciones detalladas de estos ejemplos (17).

4.1 Identificación y caracterización del SARS-CoV-2 y formulación de medidas de respuesta

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 (73–80). Gracias a la secuenciación genómica, pueden conocerse mejor los orígenes de los nuevos virus y su transmisión. El estudio de los primeros genomas de SARS-CoV-2 disponibles, procedentes de Wuhan (República Popular China) y las zonas circundantes, permitió determinar que la aparición del virus en seres humanos tuvo lugar, a lo sumo, en noviembre o diciembre de 2019 (74, 75, 81, 82). Se están recogiendo muestras de muy diversas especies animales con objeto de identificar la fuente animal inicial y los posibles hospedadores intermedios (81, 83, 84).

4.2 Seguimiento de la transmisión y la propagación geográfica

La filogenética investiga las relaciones evolutivas entre organismos diferentes a través de sus secuencias genéticas. Su uso se extiende a casi todas las ramas de la biología y puede desempeñar un papel importante en la preparación de respuestas de salud pública (17, 85–87). La interpretación de los análisis filogenéticos se afina si se dispone de los datos epidemiológicos o clínicos asociados a las muestras de secuencias genómicas del virus (es decir, los metadatos: fecha de obtención de la muestra, ubicación del paciente, variables clínicas). Los metadatos necesarios varían según el objetivo de la secuenciación genómica. En la guía de aplicación de la secuenciación del SARS-CoV-2 se abordan los aspectos técnicos de los análisis filogenéticos y filodinámicos y los metadatos, así como las posibilidades más habituales de interpretación errónea (17).

4.2.1 Investigación de la propagación geográfica y de la reintroducción entre poblaciones

Para el seguimiento de la circulación mundial del SARS-CoV-2 se está recurriendo a análisis filogeográficos basados en secuencias genómicas del virus e información sobre la procedencia de las muestras (13, 47, 88–90). Las reconstrucciones filogeográficas suelen exigir una gran potencia informática, si bien pueden emplearse técnicas de submuestreo a fin de reducir la carga computacional. Aunque resulta útil intentar delimitar la circulación del virus o el país de origen de clados o linajes concretos, debe tenerse presente que la reconstrucción filogeográfica puede verse distorsionada por diversos factores. Por ejemplo, la falta de genomas de SARS-CoV-2 de determinadas zonas reduce la probabilidad de que el origen geográfico de un linaje o clado se atribuya a esas zonas. Es posible que en las secuencias genómicas de algunas bases de datos no se indique el presunto lugar de infección del paciente, sino el de obtención de la muestra. Si se trata de ubicaciones distintas, porque el paciente viajó del lugar de la infección al de la toma de la muestra, el análisis filogeográfico puede generar una reconstrucción inexacta del origen de un clado o linaje concreto (91). Los resultados de los análisis filogeográficos deben interpretarse con cautela, sin dar por sentado que reflejan con precisión las pautas de propagación geográfica y temporal del virus.

Los métodos empleados para delimitar la propagación geográfica y temporal de un brote también son útiles para investigar los factores que han condicionado la dispersión del virus (92). Determinar las vías de transmisión puede contribuir al diseño de nuevas estrategias para prevenir la propagación. Este ha sido el enfoque aplicado, por ejemplo, ante los brotes de enfermedad del virus del Ébola en África occidental (93, 94). En cuanto al SARS-CoV-2, varios países han recurrido a la secuenciación genómica a fin de determinar la magnitud de la transmisión local en relación con los casos importados, y esa información ha servido de base para la adopción de medidas normativas (89, 90, 95–100). Los análisis filodinámicos de los factores que condicionan la transmisión suelen requerir una gran potencia computacional, y debe someterse a selección una enorme cantidad de datos de los posibles factores explicativos (por ejemplo, la densidad de las poblaciones humanas y la movilidad de los individuos). Por ello, a diferencia de la secuenciación del genoma vírico, a menudo se tarda semanas o meses en concluir dichos análisis. No obstante, también los análisis retrospectivos son de utilidad para orientar las intervenciones de respuesta ante el SARS-CoV-2 u otros patógenos emergentes.

4.2.2 Evaluación de las pruebas empíricas sobre las vías o los conglomerados de transmisión

Para investigar los conglomerados de casos y los brotes de SARS-CoV-2 se ha empleado la agrupación filogenética. El análisis de esos conglomerados puede servir de orientación cuando se sopesa la adopción de medidas de control de ámbito local para prevenir la propagación de los brotes detectados (101). Al ser la tasa de evolución del SARS-CoV-2 relativamente baja (una sustitución nucleotídica cada dos semanas), muchos contagios individuales no podrán rastrearse a partir de los datos de secuencias genómicas (35). La agrupación filogenética de las secuencias de pacientes hipotéticamente infectados por la misma fuente sería indicativa (aunque no una prueba fehaciente) de la existencia de una fuente común de infección. Por el contrario, la separación filogenética entre las secuencias víricas de pacientes hipotéticamente infectados por la misma fuente sería un claro indicio de que la presunta fuente común de infección no es tal.

4.2.3 Cuantificación del periodo de transmisibilidad y seguimiento temporal del número de reproducción

Con ayuda de métodos filogenéticos basados en relojes moleculares, se puede obtener una estimación de los límites superior e inferior del tiempo de circulación de los linajes víricos detectados en una población determinada (74, 90, 102–106). Este enfoque puede aportar información más precisa sobre el periodo de transmisibilidad del virus que la detección clínica de casos, en particular en las primeras o las últimas fases de un brote, cuando la vigilancia es menor. Se puede averiguar si se está produciendo transmisión local que no se manifiesta clínicamente estudiando la variación de las secuencias genómicas detectadas. Si se sospecha que el virus está circulando sin ser detectado, deben instaurarse programas de vigilancia diagnóstica reforzada.

Mediante el análisis de las secuencias genómicas también se puede calcular el número de personas infectadas por un solo individuo en una población determinada (el número de reproducción [R_0]) y evaluar los cambios relativos en la magnitud del brote con el paso del tiempo. Esta información puede servir para valorar el efecto de medidas de control concretas.

4.2.4 *Vigilancia ambiental de aguas y lodos residuales*

La vigilancia de las aguas residuales permite rastrear la circulación silenciosa de virus tales como el de la polio en una comunidad y detectar la presencia del patógeno antes de que se manifiesten las primeras infecciones, así como estimar la prevalencia y determinar la diversidad y las relaciones genéticas (107, 108). En varios países se ha detectado ARN de SARS-CoV-2 en aguas residuales mediante técnicas moleculares (109–115). La vigilancia ambiental constituye, por tanto, un método prometedor para la detección de portadores inadvertidos, en especial en entornos de baja prevalencia, y puede servir de sistema de «alerta anticipada» de la aparición del SARS-CoV-2 o de cambios en su prevalencia (109, 116, 117).

4.2.5 *Investigación de posibles reinfecciones*

Los coronavirus estacionales pueden producir reinfecciones (118). De hecho, se han documentado casos de reinfección por el SARS-CoV-2 (119–124). Si en un individuo se detecta SARS-CoV-2 de nuevo, se puede comprobar si se trata de una reinfección, o bien de una prolongada excreción del virus, comparando las secuencias genómicas de las muestras obtenidas en el primer y el segundo episodio (125, 126). Si las secuencias de los dos episodios presentan claras diferencias genéticas, como las que se observan entre linajes o clados distintos y documentados, el segundo episodio puede considerarse una reinfección. Para determinar si la reinfección se debe a una cepa con características antigénicas diferentes o a que la primera infección no ha inducido una respuesta inmunitaria protectora, es necesario practicar pruebas serológicas en ese momento. Así pues, la secuenciación puede ayudar a establecer la incidencia de la reinfección y a conocer sus factores de riesgo (125, 126).

4.3 Seguimiento de la evolución del SARS-CoV-2

4.3.1 *Evaluación estructurada de las mutaciones de posible importancia*

La secuenciación permite detectar sustituciones en el genoma que pueden alterar las características de la infección vírica (modificación fenotípica), como la tasa de transmisión o la virulencia. A medida que se propagan, todos los virus experimentan cambios genéticos que, en su inmensa mayoría, no influyen sustancialmente en el comportamiento vírico. Sin embargo, en el SARS-CoV-2, ciertos cambios genéticos poco frecuentes pueden provocar modificaciones fenotípicas de importancia para la salud pública. Detectar esos cambios y demostrar su repercusión constituye un reto. En general, resulta difícil establecer con certeza si el aumento de la prevalencia relativa de una mutación determinada con el paso del tiempo obedece a una diferencia fenotípica. Así, por ejemplo, el predominio de un clado o linaje vírico en una población humana puede deberse en mayor medida al comportamiento de esa población que al del propio virus. Es probable que, en buena parte de los casos, se trate de procesos aleatorios. No obstante, si el análisis filogenético indica la posibilidad de que determinadas mutaciones o variantes revistan importancia epidemiológica o sanitaria, deberán realizarse estudios clínico-genómicos rigurosos de aquellas que puedan conferir al virus propiedades fenotípicas con repercusiones clínicas. Los cambios genéticos que supuestamente provocan modificaciones fenotípicas han de evaluarse mediante métodos normalizados, como estudios de modelado de proteínas, para determinar su posible repercusión, y experimentos *in vitro* o *in vivo* con clones de virus que presenten las mutaciones en cuestión, para confirmar o descartar que las variantes propuestas posean las propiedades observadas. En la OMS se ha creado un grupo específico de trabajo, derivado de la Red de Laboratorios de Referencia de la OMS para el SARS-CoV-2. Se trata del Grupo de trabajo sobre la evolución del SARS-CoV-2 (SEWG, por sus siglas en inglés), cuya función en la OMS consiste en determinar y evaluar con prontitud las mutaciones de posible importancia y brindar asesoramiento para la mitigación de riesgos (16, 40, 127).

4.3.2 *Vigilancia de las repercusiones de la evolución del SARS-CoV-2 en las medidas de respuesta*

Como mínimo, el seguimiento mundial de los genomas de SARS-CoV-2 debería poder detectar la aparición de linajes de SARS-CoV-2 con variantes genéticas que afecten a la eficacia de las medidas de respuesta. La puesta en marcha de las campañas de vacunación contra el SARS-CoV-2 debe ir acompañada de vigilancia ante cambios en el genoma del SARS-CoV-2 que puedan reducir la eficacia de las vacunas. En el marco del seguimiento y estudio de las posibles causas de ineficacia de las vacunas, deben llevarse a cabo análisis genómicos para detectar mutantes víricos que puedan eludir la inmunidad vacunal. La secuenciación también permite identificar mutantes resistentes a los anticuerpos monoclonales (128) y a futuros tratamientos. El seguimiento de los genomas ha servido para descubrir farmacorresistencias en otros patógenos, como el virus de la gripe, el VIH y *Mycobacterium tuberculosis* (9, 129).

Por medio de la secuenciación genómica pueden observarse asimismo cambios en el virus que influyan en el resultado de las pruebas diagnósticas moleculares. Un método rentable de reducir la posibilidad de falsos negativos en esas pruebas a causa de la evolución del virus consiste en emplear varias dianas para detectar el SARS-CoV-2, como en una PCR múltiple dirigida a dos o más regiones de su genoma (47,127). Si los intentos por detectar una diana fracasan sistemáticamente o se observan alteraciones en la sensibilidad de las pruebas dirigidas a distintas regiones, puede secuenciarse el genoma del virus o el gen en cuestión a fin de determinar la posible causa. En las orientaciones provisionales sobre pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2 se ofrece más información al respecto (47). La secuenciación genómica permite determinar con prontitud si las mutaciones del virus afectan a la eficacia de las pruebas serológicas y antigénicas (130–132).

4.3.3 *Evolución del SARS-CoV-2 en los entornos de interacción entre seres humanos y animales*

Cuando un virus se transmite de una especie a otra, puede adaptarse a su nuevo hospedador. El receptor ACE2 al que se acopla el SARS-CoV-2 en el ser humano es semejante al de otros muchos animales (principalmente mamíferos) (133, 134). Por consiguiente, cabe la posibilidad de que el SARS-CoV-2 se transmita del ser humano a otras especies (antropozoonosis). Aunque la homología de la ACE2 parece indicar la susceptibilidad de ciertas especies animales al SARS-CoV-2, diferencias en otras proteínas esenciales para la replicación del virus podrían impedir la infección. Por tanto, la susceptibilidad de una especie solo puede establecerse a partir de datos rigurosos sobre infecciones naturales o experimentales. Se ha observado que diversas especies animales son susceptibles al SARS-CoV-2 (15, 127, 135–151) y que en algunas de ellas (por ejemplo, visones y hámsteres) se produce transmisión intraespecífica. Asimismo, se ha confirmado la resistencia de varias especies animales a la infección por el SARS-CoV-2. Determinados cambios genéticos en la secuencia que codifica la proteína vírica que se une a los receptores ACE2 (la espícula) podrían facilitar el salto a nuevas especies hospedadoras. Esa proteína del SARS-CoV-2, en particular el dominio de unión al receptor, constituye un elemento crucial para la inmunidad, ya sea innata o vacunal (28–32). Ya se ha constatado la diversificación de las regiones genómicas que codifican la proteína de la espícula, en casos de contagio de visones por personas infectadas por el SARS-CoV-2 y posterior transmisión zoonótica secundaria al ser humano (149). Es probable, por consiguiente, que la diversificación del gen de la espícula tras el intercambio de SARS-CoV-2 entre personas y animales aumente el riesgo de aparición de cepas que salten con facilidad al ser humano y puedan acarrear una reducción de la eficacia de la vacuna o del tratamiento con anticuerpos monoclonales (33). A fin de evitar esas situaciones, se alienta a los países a que evalúen el riesgo de propagación a otras especies animales que viven con el ser humano o en su proximidad en entornos domésticos, rurales, agropecuarios u otros (127, 152–154). Es preciso instituir estrategias de mitigación de riesgos y mecanismos adecuados de vigilancia que permitan detectar prontamente tales situaciones. La vigilancia exige recursos, por lo que, en la medida de lo posible, deben adoptarse planteamientos específicos. Para ello conviene aplicar el enfoque «Una sola salud», que implica la colaboración de distintas entidades, como los organismos de sanidad y salud pública y laboral, las autoridades veterinarias, las encargadas de la flora y la fauna silvestres y los órganos de gestión de los recursos forestales y naturales (127, 152, 155–157). En el marco de esa colaboración, se deben elaborar conjuntamente protocolos de investigación de brotes y de prevención y control de infecciones, practicar pruebas a personas y animales presuntamente infectados y publicar datos de secuencias. La transmisión antropozoonótica y la transmisión zoonótica secundaria entrañan nuevos riesgos, y la secuenciación de los genomas víricos puede ayudar a evaluarlos.

Métodos

Las presentes orientaciones provisionales se elaboraron conjuntamente con la guía *Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health* (Secuenciación del genoma del SARS-CoV-2: guía de aplicación para potenciar su repercusión en la salud pública). Dicha guía de aplicación se elaboró en consulta con expertos en los distintos aspectos de la secuenciación genómica, adscritos a la Alianza mundial de laboratorios para el diagnóstico de patógenos que representan una gran amenaza (GLAD-HP, por sus siglas en inglés), la red de referencia para las pruebas de confirmación de la COVID-19 o la Red Mundial de Alerta y Respuesta ante Brotes Epidémicos (GOARN, por sus siglas en inglés). Tras las deliberaciones iniciales de un grupo de redacción técnica, dirigido por un asesor temporal y miembros del Equipo de Laboratorio de la OMS para la COVID-19, se solicitó la colaboración de otros expertos, tanto de la OMS como ajenos a ella, y se celebraron dos reuniones en línea para resolver las cuestiones pendientes. Seguidamente se preparó una versión destinada a las partes interesadas de ámbito nacional, que contiene un resumen de la información pertinente de las orientaciones provisionales e información adicional específica para dichos destinatarios. A continuación, se distribuyeron las orientaciones provisionales a fin de que los expertos que colaboraron en la redacción de la guía de aplicación, la red de referencia para las pruebas de confirmación de la COVID-19, los coordinadores regionales de los laboratorios y otras partes interesadas, que figuran en los agradecimientos, pudieran formular observaciones.

Planes de actualización

La OMS continúa vigilando atentamente la situación por si se producen cambios que afecten a las presentes orientaciones provisionales. Si se produjese algún cambio, la OMS publicaría una actualización. En caso contrario, la validez de las presentes orientaciones será de un año a partir de la fecha de publicación.

Colaboradores

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

Colaboradores externos: Kim Benschop, Instituto Nacional de Salud Pública y Medio Ambiente (RIVM), Bilthoven (Países Bajos); Antonino di Caro, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani (Italia); Nuno Rodrigues Faria, Imperial College London y Universidad de Oxford (Reino Unido); Tanya Golubchik, Universidad de Oxford (Reino Unido); Keith Hamilton, Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE); Edward Holmes, Universidad de Sídney (Australia); Sarah C Hill, Royal Veterinary College y Universidad de Oxford (Reino Unido); Erik Karlsson, Institut Pasteur du Cambodge (Camboya); Meng Ling Moi, Universidad de Nagasaki (Japón); Leo Poon, Universidad de Hong Kong, Región Administrativa Especial de Hong Kong (China); James Shepherd, Universidad de Glasgow (Reino Unido); Etienne Simon-Lorriere, Instituto Pasteur, París (Francia). Y los demás expertos que colaboraron en la elaboración de la guía de aplicación de la secuenciación del SARS-CoV-2, en la que se basa el presente documento: Kristian Andersen, Scripps Research, La Jolla (California, EE.UU.); Julio Croda, Ministerio de Salud, Río de Janeiro (Brasil); Túlio de Oliveira, Universidad de KwaZulu-Natal, Durban (Sudáfrica); Simon Dellicour, Universidad Libre de Bruselas (Bélgica); Nathan Grubaugh, Universidad de Yale, New Haven (Connecticut, EE.UU.); Liana Kafetzopoulou, KU Leuven - Universidad de Lovaina (Bélgica); Marion Koopmans, Erasmus MC, Rotterdam (Países Bajos); Tommy Lam, Universidad de Hong Kong, Región Administrativa Especial de Hong Kong (China); Philippe Lemey, KU Leuven - Universidad de Lovaina (Bélgica); Tze Minn Mak, Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas (Singapur); Marcio Roberto Nunes, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua (Pará, Brasil); Bas Oude Munnink, Erasmus MC, Rotterdam (Países Bajos); Gustavo Palacios, Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional, Washington, D.C. (EE.UU.); Steven Pullan, Public Health England, Londres (Reino Unido); Timothy Vaughan, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich (ETH Zürich) (Suiza); Josh Quick, Universidad de Birmingham (Reino Unido); Andrew Rambaut, Universidad de Edimburgo (Reino Unido); Chantal Reusken, RIVM, Bilthoven (Países Bajos); Tanja Stadler, ETH Zürich (Suiza); Marc Suchard, Universidad de California en Los Ángeles (California, EE.UU.); Huaiyu Tian, Universidad Normal de Beijing (China); Lia van der Hoek, Centro Médico Académico, Ámsterdam (Países Bajos); Erik Volz, Imperial College, Londres (Reino Unido).

Declaraciones de intereses

Todos los colaboradores presentaron documentos de declaración de intereses. Para el asesoramiento sobre la selección de plataformas no se contó con aquellos colaboradores con posible parcialidad o conflicto de intereses respecto de algún producto.

Entidad financiadora

Financiado por la OMS.

Referencias

- Fraser C, Donnelly CA, Cauchemez S, Hanage WP, Van Kerkhove MD, Hollingsworth TD, et al. Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): early findings. *Science*. 2009;324:1557–61. doi: 10.1126/science.1176062.
- Rambaut A, Holmes E. The early molecular epidemiology of the swine-origin A/H1N1 human influenza pandemic. *PLoS Curr*. 2009;1:RRN1003. doi: 10.1371/currents.rn1003.
- Smith GJD, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature*. 2009;459:1122–5. doi: 10.1038/nature08182.
- Mena I, Nelson MI, Quezada-Monroy F, Dutta J, Cortes-Fernández R, Lara-Puente JH, et al. Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico. *eLife*. 2016;5:e16777. doi: 10.7554/eLife.16777.
- Ladner JT, Wiley MR, Mate S, Dudas G, Prieto K, Lovett S, et al. Evolution and spread of Ebola virus in Liberia, 2014–2015. *Cell Host Microbe*. 2015;18:659–69. doi: 10.1016/j.chom.2015.11.008.
- Stadler T, Kühnert D, Rasmussen DA, Plessis dL. Insights into the early epidemic spread of Ebola in Sierra Leone provided by viral sequence data. *PLoS Curr*. 2014;6. doi: 10.1371/currents.outbreaks.02bc6d927ecee7bbd33532ec8ba6a25f.
- Smits SL, Pas SD, Reusken CB, Haagmans BL, Pertile P, Cancedda C, et al. Genotypic anomaly in Ebola virus strains circulating in Magazine Wharf area, Freetown, Sierra Leone, 2015. *Euro Surveill*. 2015;20. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.40.30035.
- GLASS whole-genome sequencing for surveillance of antimicrobial resistance. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/334354>, consultado el 20 de noviembre de 2020).
- The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guidance. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/274443>, consultado el 15 de noviembre de 2020).
- Whole genome sequencing for foodborne disease surveillance: landscape paper. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/272430>, consultado el 25 de noviembre de 2020).
- Next-generation sequencing of influenza viruses: general information for national influenza centres. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/national_influenza_centres/NGS_guidance_for_NICs.pdf?ua=1, consultado el 20 de noviembre de 2020).
- GISAID (<https://www.gisaid.org/>, consultado el 5 de enero de 2021).
- Genomic epidemiology of novel coronavirus: global subsampling [sitio web]. Nextstrain, 2020 (<https://nextstrain.org/ncov/global>, consultado el 4 de diciembre de 2020).
- Volz E, Baguelin M, Bhatia S, Boonyasiri A, Cori A, Cucunuba Z, et al. Report 5 - phylogenetic analysis of SARS-CoV-2. Londres: Imperial College London, 2020 (<http://www.imperial.ac.uk/medicine/departments/school-public-health/infectious-disease-epidemiology/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-5-phylogenetics-of-sars-cov-2/>, consultado el 26 de junio de 2020).
- Oude Munnink BB, Sikkema RS, Nieuwenhuijse DF, Molenaar RJ, Munger E, Molenkamp R, et al. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science*. 2020. doi: 10.1126/science.abe5901.
- Coronavirus disease (COVID-19): situation report – 185. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200723-covid-19-sitrep-185.pdf?sfvrsn=9395b7bf_2, consultado el 15 de noviembre de 2020).
- Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338480/9789240018440-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, consultado el 8 de enero de 2021).
- Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV), 2020 (<https://talk.ictvonline.org/>, consultado el 27 de julio de 2020).
- Gorbalenya ABS, Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, et al. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5:536–44. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.
- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382:727–33. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866:165878. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165878.
- Yoshimoto FK. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2 or n-CoV19), the cause of COVID-19. *Protein J*. 2020;39:198–216. doi: 10.1007/s10930-020-09901-4.
- Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*. 2020;181:914–21 e10. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.011.
- Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395:565–74. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367:1444–8. doi: 10.1126/science.abb2762.
- Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24:422. doi: 10.1186/s13054-020-03120-0.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181:271–80 e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.

28. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity*. 2020;52:583–9. doi: 10.1016/j.immuni.2020.03.007.
29. Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*. 2020;369:643–50. doi: 10.1126/science.abc5902.
30. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*. 2020;17:613–20. doi: 10.1038/s41423-020-0400-4.
31. Shi R, Shan C, Duan X, Chen Z, Liu P, Song J, et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;584:120–4. doi: 10.1038/s41586-020-2381-y.
32. Rogers TF, Zhao F, Huang D, Beutler N, Burns A, He WT, et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. *Science*. 2020;369:956–63. doi: 10.1126/science.abc7520.
33. Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, Liu S, et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. *Cell*. 2020;182:1284–94 e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.07.012.
34. Candido DS, Claro IM, de Jesus JG, Souza WM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science*. 2020;369:1255–60. doi: 10.1126/science.abd2161.
35. van Dorp L, Acman M, Richard D, Shaw LP, Ford CE, Ormond L, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol*. 2020;83:104351. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104351.
36. Xu W, Zhang Y, Wang H, Zhu Z, Mao N, Mulders MN, et al. Global and national laboratory networks support high quality surveillance for measles and rubella. *Int Health*. 2017;9:184–9. doi: 10.1093/inthealth/ihx017.
37. Mulders MN, Serhan F, Goodson JL, Icenogle J, Johnson BW, Rota PA. Expansion of surveillance for vaccine-preventable diseases: building on the global polio laboratory network and the global measles and rubella laboratory network platforms. *J Infect Dis*. 2017;216:S324–S30. doi: 10.1093/infdis/jix077.
38. Diop OM, Kew OM, de Gourville EM, Pallansch MA. The global polio laboratory network as a platform for the viral vaccine-preventable and emerging diseases laboratory networks. *J Infect Dis*. 2017;216:S299–S307. doi: 10.1093/infdis/jix092.
39. Hay AJ, McCauley JW. The WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS): a future perspective. *Influenza Other Respir Viruses*. 2018;12:551–7. doi: 10.1111/irv.12565.
40. Terms of reference for WHO reference laboratories providing confirmatory testing for COVID-19. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://www.who.int/publications/m/item/terms-of-reference-for-who-reference-laboratories-providing-confirmatory-testing-for-covid-19>, consultado el 26 de junio de 2020).
41. RubeNS database for rubella sequences (<http://www.who-rubella.org/>, consultado el 26 de junio de 2020).
42. MeaNS: Measles nucleotide surveillance (<http://www.who-measles.org>, consultado el 26 de junio de 2020).
43. Roy S, LaFramboise WA, Nikiforov YE, Nikiforova MN, Routbort MJ, Pfeifer J, et al. Next-generation sequencing informatics: challenges and strategies for implementation in a clinical environment. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140:958–75. doi: 10.5858/arpa.2015-0507-RA.
44. Mutenherwa F, Wassenaar DR, de Oliveira T. Experts' perspectives on key ethical issues associated with HIV phylogenetics as applied in HIV transmission dynamics research. *J Empir Res Hum Res Ethics*. 2019;14:61–77. doi: 10.1177/1556264618809608.
45. Emanuel EJ, Wendler D, Grady C. What makes clinical research ethical? *JAMA*. 2000;283:2701–11. doi: 10.1001/jama.283.20.2701.
46. Pautas de la OMS sobre la ética en la vigilancia de la salud pública. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2017 (<https://iris.paho.org/handle/10665.2/34499>, consultado el 15 de noviembre de 2020).
47. Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2: orientaciones provisionales. 11 de septiembre de 2020. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/335830>, consultado el 6 de diciembre de 2020).
48. MacCannell D. SARS-CoV-2 sequencing (https://github.com/CDCgov/SARS-CoV-2_Sequencing, consultado el 1 de noviembre de 2020).
49. Cesare MD. Probe-based target enrichment of SARS-CoV-2 [protocolo]. Universidad de Oxford, 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bd5di826.
50. Vogels CBF, Brito AF, Wyllie AL, Fauver JR, Ott IM, Kalinich CC, et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT-qPCR primer–probe sets. *Nat Microbiol*. 2020;5:1299–1305. doi: 10.1038/s41564-020-0761-6.
51. Quick J, Grubaugh ND, Pullan ST, Claro IM, Smith AD, Gangavarapu K, et al. Multiplex PCR method for minION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nat Protoc*. 2017;12:1261–76. doi: 10.1038/nprot.2017.066.
52. Grubaugh ND, Gangavarapu K, Quick J, Matteson NL, De Jesus JG, Main BJ, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol*. 2019;20:8. doi: 10.1186/s13059-018-1618-7.
53. Matteson N, Grubaugh N, Gangavarapu K, Quick J, Loman N, Andersen K. PrimalSeq: Generation of tiled virus amplicons for MiSeq sequencing [Protocol]. 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bez7jf9n.
54. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol*. 2017;35:833–44. doi: 10.1038/nbt.3935.
55. Bragg L, Tyson GW. Metagenomics using next-generation sequencing. *Methods Mol Biol*. 2014;1096:183–201. doi: 10.1007/978-1-62703-712-9_15.
56. Xiao M, Liu X, Ji J, Li M, Li J, Yang L, et al. Multiple approaches for massively parallel sequencing of SARS-CoV-2 genomes directly from clinical samples. *Genome Med*. 2020;12:57. doi: 10.1186/s13073-020-00751-4.

57. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol.* 2020;5:1403–7. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5.
58. Singer J, Gifford R, Cotten M, Robertson D. CoV-GLUE: A web application for tracking SARS-CoV-2 genomic variation. Preprints. 2020:2020060225. doi: 10.20944/preprints202006.0225.v1.
59. CoVsurver: mutation analysis of hCoV-19. GISAID (<https://www.gisaid.org/epiflu-applications/covsurver-mutations-app/>, consultado el 11 de diciembre de 2020).
60. Pangolin COVID-19 lineage assigner (<https://pangolin.cog-uk.io/>, consultado el 11 de diciembre de 2020).
61. Fauquet CM, Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. *Virology.* 2005;2:64. doi: 10.1186/1743-422X-2-64.
62. Alm E, Broberg EK, Connor T, Hodcroft EB, Komissarov AB, Maurer-Stroh S, et al. Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001410.
63. Policy statement on data sharing by WHO in the context of public health emergencies (as of 13 April 2016). Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2016 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/254440>, consultado el 25 de noviembre de 2020).
64. Preparación para una gripe pandémica. Marco para el intercambio de virus gripales y el acceso a las vacunas y otros beneficios. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2011 (https://apps.who.int/gb/pip/pdf_files/pandemic-influenza-preparedness-sp.pdf, consultado el 20 de noviembre de 2020).
65. Consejo Ejecutivo, 140ª sesión, punto 7.5 del orden del día provisional. Examen del Marco de Preparación para una Gripe Pandémica: informe de la Directora General. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2016 (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274775/A70_17-sp.pdf?sequence=1&isAllowed=y, consultado el 15 de noviembre de 2020).
66. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509>, consultado el 6 de diciembre de 2020).
67. Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331639>, consultado el 4 de diciembre de 2020).
68. Molecular assays to diagnose COVID-19: summary table of available protocols. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://www.who.int/who-documents-detail/molecular-assays-to-diagnose-covid-19-summary-table-of-available-protocols>, consultado el 4 de diciembre de 2020).
69. Nota descriptiva: datos y bases de datos sobre secuenciación genética. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2018 (https://www.who.int/influenza/pip/GSD_SP_V2_10Sep2018.pdf, consultado el 11 de diciembre de 2020).
70. medRxiv: The Preprint Server for Health Sciences (<https://www.medrxiv.org/>, consultado el 1 de noviembre de 2020).
71. bioRxiv: The Preprint Server for Biology (<https://www.biorxiv.org/>, consultado el 1 de noviembre de 2020).
72. Virological (<https://virological.org/>, consultado el 1 de noviembre de 2020).
73. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579:265–9. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
74. Lu J, du Plessis L, Liu Z, Hill V, Kang M, Lin H, et al. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 in Guangdong Province, China. *Cell.* 2020;181:997–1003.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.023.
75. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579:270–3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
76. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
77. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases by RT-PCR. Facultad de Medicina de la Universidad de Hong Kong, 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/peiris-protocol-16-1-20.pdf?sfvrsn=af1aac73_4, consultado el 1 de diciembre de 2020).
78. Melén K, Kakkola L, He F, Airene K, Vapalahti O, Karlberg H, et al. Production, purification and immunogenicity of recombinant Ebola virus proteins: a comparison of Freund's adjuvant and adjuvant system 03. *J Virol Methods.* 2017;242:35–45. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.12.014.
79. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Ginebra: Organización Mundial de la Salud (<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>, consultado el 26 de junio de 2020).
80. Ren Y, Zhou Z, Liu J, Lin L, Li S, Wang H, et al. A strategy for searching antigenic regions in the SARS-CoV spike protein. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2003;1:207–15. doi: 10.1016/s1672-0229(03)01026-x.
81. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382:1199–207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
82. Andersen K. Clock and TMRCA based on 27 genomes. Scripps Research, 2020 (<https://virological.org/t/clock-and-tmrca-based-on-27-genomes/347>, consultado el 26 de junio de 2020).
83. Report of the WHO–China Joint Mission on coronavirus disease 2019 (COVID-19). Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 ([https://www.who.int/publications-detail-redirect/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail-redirect/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-(covid-19)), consultado el 15 de julio de 2020).

84. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17:181–92. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.
85. Grenfell BT, Pybus OG, Gog JR, Wood JLN, Daly JM, Mumford JA, et al. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. *Science.* 2004;303:327–32. doi: 10.1126/science.1090727.
86. Volz EM, Koelle K, Bedford T. Viral phylodynamics. *PLoS Comput Biol.* 2013;9. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002947.
87. Pybus OG, Rambaut A. Evolutionary analysis of the dynamics of viral infectious disease. *Nat Rev Genet.* 2009;10:540–50. doi: 10.1038/nrg2583.
88. Lai A, Bergna A, Caucci S, Clementi N, Vicenti I, Dragoni F, et al. Molecular tracing of SARS-CoV-2 in Italy in the first three months of the epidemic. *Viruses.* 2020;12. doi: 10.3390/v12080798.
89. Fauver JR, Petrone ME, Hodcroft EB, Shioda K, Ehrlich HY, Watts AG, et al. Coast-to-coast spread of SARS-CoV-2 during the early epidemic in the United States. *Cell.* 2020;181:990–6.e5. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.021.
90. Candido DdS, Claro IM, Jesus dJG, Souza dWM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science.* 2020;369:1255–60. doi: 10.1101/2020.06.11.20128249.
91. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: a SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
92. Lemey P, Rambaut A, Bedford T, Faria N, Bielejec F, Baele G, et al. Unifying viral genetics and human transportation data to predict the global transmission dynamics of human influenza H3N2. *PLoS Pathog.* 2014;10:e1003932. doi: 10.1371/journal.ppat.1003932.
93. Dudas G, Carvalho LM, Bedford T, Tatem AJ, Baele G, Faria NR, et al. Virus genomes reveal factors that spread and sustained the Ebola epidemic. *Nature.* 2017;544:309–15. doi: 10.1038/nature22040.
94. Dellicour S, Baele G, Dudas G, Faria NR, Pybus OG, Suchard MA, et al. Phylodynamic assessment of intervention strategies for the West African Ebola virus outbreak. *Nat Commun.* 2018;9:1–9. doi: 10.1038/s41467-018-03763-2.
95. Lemey P, Rambaut A, Drummond AJ, Suchard MA. Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Comput Biol.* 2009;5:e1000520. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000520.
96. Lemey P, Rambaut A, Welch JJ, Suchard MA. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. *Mol Biol Evol.* 2010;27:1877–85. doi: 10.1093/molbev/msq067.
97. Bloomquist EW, Lemey P, Suchard MA. Three roads diverged? Routes to phylogeographic inference. *Trends Ecol Evol.* 2010;25:626–32. doi: 10.1016/j.tree.2010.08.010.
98. Faria NR, Suchard MA, Rambaut A, Lemey P. Towards a quantitative understanding of viral phylogeography. *Curr Opin Virol.* 2011;1:423–9. doi: 10.1016/j.coviro.2011.10.003.
99. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: A SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv.* 2020:165464. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
100. Reusken CB, Buiting A, Bleeker-Rovers C, Diederens B, Hooiveld M, Friesema I, et al. Rapid assessment of regional SARS-CoV-2 community transmission through a convenience sample of healthcare workers, the Netherlands, March 2020. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.12.2000334.
101. Worby CJ, Lipsitch M, Hanage WP. Shared genomic variants: identification of transmission routes using pathogen deep-sequence data. *Am J Epidemiol.* 2017;186:1209–16. doi: 10.1093/aje/kwx182.
102. Duchene S, Featherstone L, Haritopoulou-Sinaniidou M, Rambaut A, Lemey P, Baele G. Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. *bioRxiv.* 2020:077735. doi: 10.1101/2020.05.04.077735.
103. Volz E, Fu H, Wang H, Xi X, Chen W, Liu D, et al. Genomic epidemiology of a densely sampled COVID19 outbreak in China. *medRxiv.* 2020:20033365. doi: 10.1101/2020.03.09.20033365.
104. Bedford T, Greninger AL, Roychoudhury P, Starita LM, Famulare M, Huang M-L, et al. Cryptic transmission of SARS-CoV-2 in Washington State. *Science.* 2020;370:571–5. doi: 10.1101/2020.04.02.20051417.
105. Zehender G, Lai A, Bergna A, Meroni L, Riva A, Balotta C, et al. Genomic characterization and phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 in Italy. *J Med Virol.* 2020;92:1637–40. doi: 10.1002/jmv.25794.
106. Worobey MA-O, Pekar JA-O, Larsen BA-O, Nelson MA-O, Hill V, Joy JB, et al. The emergence of SARS-CoV-2 in Europe and North America. *Science.* 2020;370:564–70. doi: 10.1126/science.abc8169.
107. Asghar H, Diop OM, Weldegebriel G, Malik F, Shetty S, El Bassioni L, et al. Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. *J Infect Dis.* 2014;210 Suppl 1:S294–303. doi: 10.1093/infdis/jiu384.
108. Paul JR, Trask JD, Gard S. Ii. Poliomyelitic virus in urban sewage. *J Exp Med.* 1940;71:765–77. doi: 10.1084/jem.71.6.765.
109. Nemudryi A, Nemudraia A, Wiegand T, Surya K, Buyukyuruk M, Cicha C, et al. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *Cell Rep Med.* 2020;1:100098. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100098.
110. Wu F, Zhang J, Xiao A, Gu X, Lee WL, Armas F, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *mSystems.* 2020;5. doi: 10.1128/mSystems.00614-20.
111. Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, et al. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci Total Environ.* 2020;728:138764. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764.
112. Wurtzler SMV, Mouchel JM, Maday Y, Teyssou R, Richard E, Almayrac JL, Moulin L. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *medRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.04.12.20062679.
113. La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, Bonanno Ferraro G, Veneri C, Bonadonna L, et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci Total Environ.* 2020;736:139652. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139652.

114. Gertjan Medema LH, Goffe Elsinga, Ronald Italiaander, Anke Brouwer. Presence of SARS-coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environ Sci Technol Lett*. 2020. doi: 10.1021/acs.estlett.0c00357.
115. Lodder W, de Roda Husman AM. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:533–4. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30087-X.
116. Reseña científica: situación de la vigilancia ambiental del SARS-CoV-2. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/333862>, consultado el 12 de diciembre de 2020).
117. Rapid expert consultation on environmental surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater: summary report. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2020 (<https://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/water-and-sanitation/publications/2020/rapid-expert-consultation-on-environmental-surveillance-of-sars-cov-2-in-wastewater-summary-report-2020>, consultado el 12 de diciembre de 2020).
118. Edridge AWD, Kaczorowska JM, Hoste ACR, Bakker M, Klein M, Jebbink MF, et al. Coronavirus protective immunity is short lasting. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.05.11.20086439.
119. To KK, Hung IF, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Tam AR, et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1275.
120. Goldman JD, Wang K, Roltgen K, Nielsen SCA, Roach JC, Naccache SN, et al. Reinfection with SARS-CoV-2 and failure of humoral immunity: a case report. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.09.22.20192443.
121. Gupta V, Bhojar RC, Jain A, Srivastava S, Upadhayay R, Imran M, et al. Asymptomatic reinfection in two healthcare workers from India with genetically distinct SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1451.
122. Mulder M, van der Vegt D, Oude Munnink BB, GeurtsvanKessel CH, van de Bovenkamp J, Sikkema RS, et al. Reinfection of SARS-CoV-2 in an immunocompromised patient: a case report. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1538.
123. Tillett RL, Sevinsky JR, Hartley PD, Kerwin H, Crawford N, Gorzalski A, et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *Lancet Infect Dis*. 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30764-7.
124. Van Elslande J, Vermeersch P, Vandervoort K, Wawina-Bokalanga T, Vanmechelen B, Wollants E, et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection by a phylogenetically distinct strain. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1330.
125. Common investigation protocol for investigating suspected SARS-CoV-2 reinfection. Atlanta: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos, 2020 (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/php/reinfection.html>, consultado el 1 de noviembre de 2020).
126. 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>, consultado el 1 de noviembre de 2020).
127. Emergencies preparedness, response: SARS-CoV-2 variants. Disease outbreak news. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 31 de diciembre de 2020 (<https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov2-variants/en/>, consultado el 31 de diciembre de 2020).
128. Baum A, Fulton BO, Wloga E, Copin R, Pascal KE, Russo V, et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. *Science*. 2020;369:1014–8. doi: 10.1126/science.abd0831.
129. Inzaule SC, Hamers RL, Paredes R, Yang C, Schuurman R, Rinke de Wit TF. The evolving landscape of HIV drug resistance diagnostics for expanding testing in resource-limited settings. *AIDS Rev*. 2017;19:219–30 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28182618>, consultado el 15 de noviembre de 2020).
130. Sepulveda N, Phelan J, Diez-Benavente E, Campino S, Clark TG, Hopkins H, et al. Global analysis of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein-2 (pfrp2) and pfrp3 gene deletions using whole-genome sequencing data and meta-analysis. *Infect Genet Evol*. 2018;62:211–9. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.039.
131. Cremer J, Hofstraat SHI, van Heiningen F, Veldhuijzen IK, van Benthem BHB, Benschop KSM. Genetic variation of Hepatitis B surface antigen among acute and chronic Hepatitis B virus infections in the Netherlands. *J Med Virol*. 2018;90:1576–85. doi: 10.1002/jmv.25232.
132. Hollinger FB. Hepatitis B virus genetic diversity and its impact on diagnostic assays. *J Viral Hepat*. 2007;14 Suppl 1:11–5. doi: 10.1111/j.1365-2893.2007.00910.x.
133. Lam SD, Bordin N, Waman VP, Scholes HM, Ashford P, Sen N, et al. SARS-CoV-2 spike protein predicted to form complexes with host receptor protein orthologues from a broad range of mammals. *Sci Rep*. 2020;10:16471. doi: 10.1038/s41598-020-71936-5.
134. Damas J, Hughes GM, Keough KC, Painter CA, Persky NS, Corbo M, et al. Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in vertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117:22311–22. doi: 10.1073/pnas.2010146117.
135. Freuling CM, Breithaupt A, Müller T, Sehl J, Balkema-Buschmann A, Rissmann M, et al. Susceptibility of raccoon dogs for experimental SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.08.19.256800v1.
136. Schlottau K, Rissmann M, Graaf A, Schon J, Sehl J, Wylezich C, et al. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. *Lancet Microbe*. 2020;1:e218–e25. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30089-6.
137. Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*. 2020;368:1016–20. doi: 10.1126/science.abb7015.
138. Kim YI, Kim SG, Kim SM, Kim EH, Park SJ, Yu KM, et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe*. 2020;27:704–9 e2. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.023.
139. Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N Engl J Med*. 2020;383:592–4. doi: 10.1056/NEJMc2013400.

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

Anexo I: Preguntas pertinentes que deben formularse antes de iniciar un programa de secuenciación

- 1) ¿Qué objetivos se pretende cubrir con el programa de secuenciación?
- 2) ¿Qué muestras deben secuenciarse para alcanzar los objetivos indicados en la pregunta anterior? ¿Qué metadatos o fuentes suplementarias de datos resultan esenciales?
- 3) ¿Cuáles son las partes interesadas pertinentes y cuáles son sus responsabilidades? ¿Cómo pueden intervenir de manera eficaz?
- 4) ¿Cómo se puede transmitir la información y transportar las muestras rápida y adecuadamente entre las partes interesadas, cuando sea necesario?
- 5) ¿El proyecto se ha diseñado de conformidad con la legislación local, nacional e internacional y con los principios éticos?
- 6) ¿Se dispone de financiación, equipamiento y personal suficientes para llevar a buen término todas las fases de la obtención de muestras, la secuenciación en laboratorio, los análisis bioinformáticos, filodinámicos y de otro tipo, la publicación de los datos y la pronta comunicación de los resultados a las partes interesadas pertinentes?
- 7) ¿Cómo se pueden alcanzar los objetivos sin que se vean afectados otros frentes de trabajo del laboratorio, como los análisis clínicos, y evitando la duplicación de tareas?
- 8) ¿Cómo se va a evaluar la rentabilidad del programa (es decir, su eficacia en relación con los costos) y su utilidad?

Anexo II: Lista de verificación para la puesta en marcha de un programa de secuenciación del SARS-CoV-2

Objetivos

- Definir los objetivos del programa de secuenciación. ¿Qué información se espera obtener de la secuenciación que complemente los métodos adoptados hasta el momento o resulte más rentable?

Determinación y participación de las partes interesadas

- Determinar cuáles son las partes interesadas pertinentes.
- Examinar los objetivos del programa con representantes de alto nivel de las partes interesadas y delimitar las responsabilidades de cada una de ellas.
- Considerar si es conveniente suministrar a las partes interesadas material informativo sobre el potencial y los requisitos de la secuenciación del SARS-CoV-2.
- Determinar qué conexiones deben existir entre las partes interesadas pertinentes para asegurar una rápida transmisión de las muestras y de la información solicitada y una pronta utilización de los resultados.
- Comprobar que existen vínculos pertinentes y bien definidos entre las partes interesadas.

Consideraciones técnicas

- Determinar, en consulta con miembros de alto nivel de los equipos de detección y análisis de casos, el volumen de muestreo genómico necesario para lograr los objetivos deseados.
- Determinar, en consulta con miembros de alto nivel de los equipos de detección y análisis de casos, los metadatos necesarios para lograr los objetivos deseados.
- Seleccionar protocolos adecuados de preparación de muestras y bibliotecas.
- Seleccionar protocolos bioinformáticos adecuados.
- Seleccionar protocolos analíticos adecuados.

Consideraciones logísticas

- Evaluar dónde se van a llevar a cabo la secuenciación y el análisis; por ejemplo, en un laboratorio de diagnóstico que ya esté en funcionamiento o en un laboratorio externo (comercial o universitario).
- Determinar las fuentes apropiadas de financiación para la secuenciación en laboratorio y el almacenamiento y análisis de los datos.
- Comprobar que se dispone de reactivos y recursos informáticos suficientes y que es factible obtenerlos cuando se necesiten.
- Comprobar que se cuenta con personal suficiente y adecuado para llevar a buen término todas las fases del programa.
- Comprobar que se puede mantener la integridad de las muestras durante todo el proceso mediante una cadena de frío u otros medios.
- Comprobar que los metadatos se obtengan y almacenen adecuadamente y se vinculen a la muestra biológica correcta.
- Valorar la presión adicional que la secuenciación pueda ejercer sobre las medidas de respuesta de salud pública vigentes y evaluar cómo se puede contrarrestar.
- En el caso de los programas de secuenciación a gran escala, determinar modos de optimizar la transmisión de datos y muestras entre los grupos participantes (por ejemplo, si es posible emplear una identificación única para cada muestra y el mismo formato para los metadatos).

Aspectos éticos y de seguridad

- Evaluar debidamente las condiciones éticas de la generación, el uso y el almacenamiento de los datos de secuencias y los metadatos conexos.
- Evaluar los riesgos de las actividades de secuenciación a fin de mantener unas condiciones adecuadas de bioseguridad en todas las fases.
- Evaluar los riesgos de las actividades de secuenciación a fin de mantener unas condiciones adecuadas de bioprotección, si así lo exige la legislación nacional o regional.
- Evaluar la repercusión en los recursos humanos, en particular el traslado de personal o la contratación de personal adicional, a fin de mantener la carga individual de trabajo en niveles razonables.
- Garantizar que el personal pueda desplazarse al lugar de trabajo y permanecer en él en condiciones de seguridad y de conformidad con las directrices nacionales para la prevención de contagios durante el brote de COVID-19.
- Diseñar estrategias para que el programa de secuenciación no se interrumpa si miembros esenciales del personal enferman o han de permanecer en aislamiento.

Publicación de los datos

- Obtener el acuerdo de todas las partes interesadas respecto de las secuencias y metadatos que se van a publicar y las plataformas y el momento en que se publicarán.
- Obtener el acuerdo de todas las partes interesadas respecto de la posibilidad de restringir algunos metadatos a un número limitado de usuarios locales y elaborar estrategias para garantizar la protección de esos datos.
- Comprobar que la publicación de los datos se ajusta a las reglamentaciones nacionales e internacionales.

Evaluación

- Evaluar el programa de secuenciación periódicamente, en particular los logros y los problemas persistentes.
- Establecer un marco de vigilancia y evaluación del desempeño del programa de secuenciación en cuanto a los aspectos técnicos (calidad, etcétera) y al cumplimiento de los objetivos.

Anexo III: Plataformas utilizadas habitualmente para la secuenciación del SARS-CoV-2 y características

Instrumento ^a	Ventajas	Limitaciones	Tiempo de ejecución del instrumento	Rendimiento de la secuenciación	Comparación de los costos relativos
Secuenciación Sanger	Amplia difusión. Fácil manejo. Secuenciación rentable si se requieren pocas dianas.	Muy bajo rendimiento. Los amplicones (generalmente de 1000 pb como máximo) han de amplificarse y secuenciarse individualmente. Costosa para genomas completos. No es adecuada para aplicaciones metagenómicas.	Normalmente unas horas.	De 100 kb a 2 Mb por ejecución.	Costo relativamente bajo para pocas dianas.
Illumina (por ejemplo, iSeq, MiniSeq, MiSeq, NextSeq, HiSeq, NovaSeq)	Pueden alcanzar una gran productividad. Gran precisión. iSeq es portátil. Los métodos de tratamiento de los datos están bien definidos.	Salvo Illumina iSeq, la adquisición y el mantenimiento resultan costosos en comparación con otras plataformas. Longitud máxima de lectura de 2 × 300 pb.	De 10 a 55 h, según el instrumento.	De 1,2 a 6000 Gb, según el instrumento.	Costos elevados de puesta en funcionamiento y mantenimiento. Costos moderados de funcionamiento.
Oxford Nanopore Technologies (Flongle, MinION, GridION, PromethION)	Secuenciación portátil y directa. Datos instantáneos. Costos bajos de puesta en funcionamiento y mantenimiento. Se puede detener la secuenciación en cuanto se obtengan datos suficientes. Se pueden obtener lecturas de gran longitud (mayor que la longitud total del genoma del SARS-CoV-2).	Problemas con los homopolímeros. La tasa de error por lectura es aproximadamente del 5% (celdas de flujo R9.4) por lo que, para obtener secuencias de consenso de alta precisión, es esencial emplear procedimientos bioinformáticos adecuados. Actualmente no son adecuados para determinar la variación intrahospedador, a menos que se recurra a la secuenciación de réplicas (52).	Disponibilidad inmediata de las lecturas. Pueden mantenerse en funcionamiento durante varios días si es necesario.	Oscila entre <2 Gb con la célula de flujo de Flongle y 220 Gb con la célula de flujo de PromethION. PromethION puede procesar hasta 48 células de flujo.	No tiene costos de mantenimiento y los de puesta en marcha son relativamente bajos. Costos moderados de funcionamiento.
Ion Torrent	Una vez iniciada la secuenciación, los resultados se obtienen en poco tiempo.	Problemas con los homopolímeros. Costo elevado de adquisición. Por lo general, la longitud máxima de lectura es de unos 400 pb.	De 2 h a 1 día, en función de la matriz y el dispositivo.	De 30 Mb a 50 Gb, en función de la matriz y el dispositivo.	Costos moderados.

^a En esta lista se ofrece un panorama general de los instrumentos más utilizados para la secuenciación del genoma del SARS-CoV-2, sin que ello implique que la OMS avala estos productos.

^b En la referencia (8) pueden encontrarse estimaciones de diferentes costos.

La OMS continúa vigilando atentamente la situación por si se producen cambios que afecten a las presentes orientaciones provisionales. Si se produjese algún cambio, la OMS publicaría una actualización. En caso contrario, la validez de las presentes orientaciones será de dos años a partir de la fecha de publicación.

© Organización Mundial de la Salud 2021. Algunos derechos reservados. Esta obra está disponible en virtud de la licencia [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

WHO reference number: [WHO/2019-nCoV/genomic_sequencing/2021.1](https://www.who.int/publications/iitem/9789295013114)