



INSTITUTO
NACIONAL DE
SALUD



La salud
es de todos

Minsalud

Lineamiento Técnico

Lineamientos para la vigilancia por laboratorio de virus respiratorios

Actualización 2021-06-29

Abstract

Este documento aclara y actualiza los aspectos técnicos para realizar la vigilancia por laboratorio de los virus respiratorios, incluyendo el SARS-CoV2

Dirección de Redes en Salud Pública
sgomezr@ins.gov.co

Contenido

1. Objetivo	3
2. Contexto normativo	3
3. Toma de muestras en casos de infecciones respiratorias	4
Personal que realiza la toma de la muestra	4
Tipos de muestras	4
4. Condiciones de conservación, almacenamiento y transporte	5
5. Registro documental relacionado con la colecta y notificación DE MUESTRAS	5
6. Condiciones a tener en cuenta para la obtención de resultados en la vigilancia por laboratorio	6
7. Funciones de la Red Nacional de Laboratorios (RNL) para la Vigilancia de Virus Respiratorios	6
Funciones de los laboratorios prestadores públicos y privados o referentes para el evento en el nivel municipal y/o local, según corresponda	6
Funciones del Laboratorio de Salud Pública (LSP) Departamental y distrital	7
Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR):	7
8. VIGILANCIA GENÓMICA DE SARS-CoV-2	8
Tamizaje de variantes del virus SARS-CoV-2	9

Créditos

Sergio Yebraíl Gómez Rangel
Coordinador Grupo Virología

Revisó

Esther Cristina Barros Liñán.
Profesional Esp. Dirección de Redes en Salud pública

Clara del Pilar Zambrano.
Subdirectora Laboratorio Nacional de referencia

Aprobó

Astrid Carolina Flórez Sánchez
Directora de Redes en Salud Pública

©

Instituto Nacional de Salud
Bogotá, Colombia
Av. Calle 26 No. 51-20

1. Objetivo

Actualizar los lineamientos para la vigilancia por laboratorio de los virus respiratorios, alineados con

las estrategias de vigilancia de variantes de SARS-CoV-2 en Colombia

2. Contexto normativo

El Instituto Nacional de Salud -INS es una entidad de naturaleza científica y técnica, con personería jurídica, autonomía administrativa y patrimonio propio creado por el Decreto 470 de 1968, con cambio de naturaleza mediante el Decreto 4109 de 2011 y reestructurado a través de los Decretos 2774 y 2775 del 28 de diciembre de 2012, adscrita al Ministerio de Salud y Protección Social, perteneciente al Sistema General de Seguridad Social en Salud y al Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación. Uno de sus objetos es: *“actuar como laboratorio nacional de referencia y coordinador de las redes especiales, en el marco del Sistema General de Seguridad Social en Salud y del Sistema de Ciencia, Tecnología e Innovación”*.

Que así mismo el artículo 4 del Decreto 4109 de 2011 establece las funciones del Instituto Nacional de Salud, dentro de las que se resaltan: *“(…) 17. Coordinar y asesorar la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública, Red de Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión y Red Nacional de Donación y Trasplantes de Órganos y Tejidos, en coordinación con el Ministerio de Salud y Protección Social.”*

Que el artículo 18 del Decreto 2774 de 2012, indica que la Dirección de Redes en Salud Pública tiene, entre otras funciones: *“(…) 3. Dirigir, programar, coordinar y supervisar las actividades de laboratorio para el diagnóstico de referencia y confirmación de eventos que contribuyan a la investigación, vigilancia y control en salud pública. 12.*

Supervisar el cumplimiento de los estándares de calidad a los laboratorios o instituciones que soliciten autorización para realizar análisis de interés en salud pública.”

Que dentro de las competencias de los laboratorios nacionales referencia (Artículo 2.8.8.2.9 del Decreto 780 de 2016), se encuentran: *“(…) 6. Desarrollar las acciones que garanticen la eficiente operación del Sistema de Vigilancia en Salud Pública acorde con los lineamientos que defina el Ministerio de Salud y Protección Social en relación con el componente de laboratorio¹⁵. Vigilar la calidad de los exámenes de laboratorio de interés en salud pública desarrollados por los laboratorios de salud pública departamentales y del Distrito Capital. 20. Proponer y divulgar las normas científicas y técnicas que sean aplicables para el fortalecimiento de la Red. 23. Prestar asesoría y asistencia técnica a los laboratorios de salud pública en aspectos relacionados con sus competencias.”*

Que dentro de las funciones del Instituto Nacional de Salud (Artículo 2.8.8.1.1.8 del Decreto 780 de 2016) se encuentran: *“(…) a. Desarrollar las acciones que garanticen la operación del Sistema de Vigilancia en Salud Pública en las áreas de su competencia; d. Apoyar a los departamentos y distritos en la gestión del Sistema de Vigilancia en Salud Pública y en el desarrollo de acciones de vigilancia y control epidemiológico en las áreas*

de su competencia, cuando así se requiera; h. Supervisar y evaluar las acciones de vigilancia en salud pública realizadas por las entidades territoriales, en las áreas de su competencia”.

3. Toma de muestras en casos de infecciones respiratorias

Personal que realiza la toma de la muestra

De acuerdo con el lineamiento técnico emitido por el Ministerio de Salud y Protección Social, las muestras deben ser tomadas por profesionales de la salud que hayan recibido capacitación y entrenamiento en la toma de este tipo de muestras, teniendo en cuenta todas las instrucciones de bioseguridad, incluido el uso de los equipos de protección personal adecuados para la manipulación de muestras potenciales con virus respiratorios. En el caso de los auxiliares de laboratorio o auxiliares de enfermería capacitadas y entrenadas, deberán contar con la supervisión por parte de un profesional de la salud que verifique el procedimiento. *Tomado de: numeral 6.1.4 del documento “LINEAMIENTOS PARA LA GESTIÓN DE MUESTRAS DURANTE LA PANDEMIA DEL SARS-CoV-2 (COVID-19) EN COLOMBIA”, disponible en el siguiente vínculo:* <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/VSP/psps02-lineamientos-gmuestras-pandemia-sars-cov-2-col.pdf>

Tipos de muestras

Del tracto respiratorio inferior: toda muestra que incluya secreciones, fluidos o células de las vías respiratorias posteriores a la laringe. Estas pueden incluir el esputo, el lavado bronco alveolar y el aspirado traqueal (tomada de acuerdo con criterios médicos). Estas muestras se consideran ideales

En consonancia con la normativa vigente, a continuación, se describen los criterios y estrategias de trabajo para la realización de la vigilancia por laboratorio de virus respiratorios en nuestro país.

debido a la asociación de la severidad de los casos con la invasión de tejido en la patogénesis viral.

Del tracto respiratorio superior: aquellas obtenidas por hisopados nasofaríngeo, orofaríngeo, o por toma combinada (recomendado) en los cuales ambos hisopos se sumergen en el mismo tubo de medio de transporte viral. Estas muestras son rutinarias en las estrategias de muestreo y rastreo por búsqueda activa (estrategia PRASS) y en contactos o casos asintomáticos.

Tejidos y biopsias del tracto respiratorio: aquellas que son tomadas en casos de mortalidad por infecciones respiratorias o síndromes asociados. Teniendo en cuenta las limitaciones actuales para realizar viscerotomías y/o autopsias en Colombia, se recomienda como muestra ideal la toma de hisopados *post-mortem* o colecta de secreciones respiratorias hasta seis horas posteriores a la muerte. Cuando sea posible la obtención de tejidos se deben recolectar fragmentos de 3 a 5 cm de espesor, priorizando parénquima pulmonar (izquierdo y derecho), bronquios, y tráquea (proximal / distal). En el marco de la vigilancia por la emergencia actual por COVID-19 en el país, estas muestras deben enviarse al Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) en condiciones de embalaje para estudios histopatológicos (formol tamponado al 10%) y estudios virales (solución salina o buffer). Como alternativa en casos fatales donde las

muestras anteriores no puedan ser colectadas, se sugiere la toma de sangre total (punción cardiaca).

Estas muestras deben refrigerarse a 4°C rápidamente y enviarse al laboratorio para ser procesadas a la mayor brevedad posible; los entes inter-

nacionales recomiendan que las muestras que no vayan a ser procesadas luego de 3-4 días de toma, deben almacenarse en congelación (-70°C idealmente) hasta su traslado al laboratorio.

4. Condiciones de conservación, almacenamiento y transporte

Independientemente del tipo de muestra, la cadena de frío a temperatura de refrigeración (2 a 8 °C) debe garantizarse hasta que se inicie la cadena de procesamiento en el laboratorio. Si los análisis por laboratorio no son posibles en los siguientes 3-4 días, se deben almacenar a temperatura de ultracongelación (-70°C).

La viabilidad y conservación del material viral dependerá de su concentración en la muestra, y de las condiciones de almacenamiento. En general, se considera que las muestras almacenadas en ultracongelación (-70°C o inferior) pueden ser estables durante meses o años.

El transporte de las muestras debe realizarse en cumplimiento de condiciones técnicas y de bioseguridad como está descrito en manual de procedimientos para la toma, conservación y envío de muestras al Laboratorio Nacional de Referencia <https://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/Manual-toma-envio-muestras-ins.pdf#search=manual%20de%20toma%20de%20muestra> y conforme a la guía de la Organización Mundial de la Salud como reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2020 <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/327978/WHO-WHE-CPI-2019.20-spa.pdf?ua=1>

5. Registro documental relacionado con la colecta y notificación de muestras

Todas las muestras tomadas para el diagnóstico de virus respiratorios deberán ser remitidas a los Laboratorios de Salud Pública Departamentales y distrital, junto con la ficha epidemiológica y la ficha de solicitud del laboratorio de salud pública correspondiente (enlaces de descarga al final del párrafo), de acuerdo con el algoritmo para la vigilancia por laboratorio de virus respiratorios, la definición de casos y los protocolos de vigilancia epidemiológica vigentes. Cuando se requiera su remisión al Laboratorio Nacional de Referencia, se debe usar el sistema de información LABMUESTRAS del Sistema de Vigilancia por Laboratorio (SIVILAB).

http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Lineamientos/348_Irag_inusitado_2021.pdf

http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Lineamientos/345_ESL_Irag_2021.pdf

http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Lineamientos/Laboratorios_SP_2020.pdf

El registro en LABMUESTRAS – SIVILAB se debe realizar de acuerdo con el manual de toma de muestras citado anteriormente, diligenciando la información en la herramienta o software y teniendo en cuenta lo siguiente:

1. Datos demográficos completos y correctamente digitados.
2. Se anexen en la herramienta los documentos requeridos (fichas y carta remisoría) información que debe estar completa y legible.

Toda la información asociada al caso, la calidad y cantidad de muestra colectada son determinantes para el éxito de los análisis de laboratorio y su contextualización con los hallazgos clínicos, para el ajuste de casos.

6. Condiciones a tener en cuenta para la obtención de resultados en la vigilancia por laboratorio

El éxito del diagnóstico de influenza y otros virus respiratorios depende de:

- Dinámica de la infección (tiempo entre fecha de inicio de síntomas y fecha de recolección de muestra).
- Recolección de la muestra: técnica de hisopado, entrenamiento de personal y condiciones de bioseguridad.
- Conservación y transporte (para garantizar la viabilidad del virus y la seguridad de profesional y de la comunidad)
- Blanco de detección (proteínas o ácidos nucleicos).
- Desempeño de las pruebas diagnósticas (sensibilidad/especificidad).
- Controles internos incluidos en el proceso analítico.

7. Funciones de la Red Nacional de Laboratorios (RNL) para la Vigilancia de Virus Respiratorios

Funciones de los laboratorios prestadores públicos y privados o referentes para el evento en el nivel municipal y/o local, según corresponda

- Informar a los Laboratorios de Salud Pública (LSP), las técnicas de diagnóstico que realizan en sus laboratorios para apoyar el diagnóstico de la Infección Respiratoria Aguda (IRA).
- Asegurar todos los insumos y reactivos para la recolección de muestras respiratorias conforme a los lineamientos de toma y recolección.
- Asegurar el envío de las muestras respiratorias al LSP, dentro de los tiempos y condiciones de embalaje, conservación y transporte.
- Realizar la remisión de muestras con la documentación respectiva.
- Realizar las pruebas del panel de virus respiratorios para la confirmación del agente etiológico de acuerdo a su capacidad diagnóstica; de lo contrario seguir el procedimiento de envío de las muestras al LSP.
- Participar en el control de calidad indirecto que el LSP departamental o distrital disponga como aseguramiento de la calidad en los laboratorios diagnósticos.

Funciones del Laboratorio de Salud Pública (LSP) Departamental y distrital

- Adoptar las políticas nacionales del LNR.
- Monitorear la red de hospitales y clínicas que realizan la vigilancia de IRA y verificar los estándares de calidad, de acuerdo con la normativa vigente.
- Realizar la identificación viral de influenza y la subtipificación, adicional otros virus respiratorios a todas las muestras procedentes de la vigilancia de IRA (Inmunofluorescencia, RT-PCR u otra técnica), de acuerdo con la capacidad diagnóstica de su laboratorio. Los Laboratorios de Salud Pública designados como colaboradores por el LNR para la vigilancia por laboratorio de virus influenza y otros virus respiratorios (circular 031 de 2018) realizarán el diagnóstico para IRA, IRAG (Grave) e IRAGi (inusitado) y aplicarán los mismos algoritmos implementados y transferidos por el LNR-INS.
- Asegurar todos los insumos y reactivos para la recolección de muestras respiratorias y procesamiento de las muestras
- Asegurar la vigilancia de las diferentes estrategias de la vigilancia de IRA
- Capacitar a la red de laboratorios del área de su influencia en la toma, diagnóstico, interpretación de las pruebas y envío de muestras nasofaríngeas para diagnóstico de influenza y otros virus respiratorios.
- Informar a los epidemiólogos los casos confirmados por el laboratorio.
- Garantizar la vigilancia de IRA en su departamento, corroborar que las muestras estén correctamente embaladas para su envío al

LNR-Grupo de Virología, cuando corresponda la notificación como fue descrito previamente.

- Realizar el envío de las muestras al LNR teniendo en cuenta el ítem “condiciones de conservación, almacenamiento y transporte” del presente documento.
- Diseñar y ejecutar las estrategias de control de calidad a su red de laboratorios para la vigilancia de SARS-CoV-2.
- Participar en los programas de evaluación del desempeño directo e indirecto teniendo en cuenta los cronogramas realizados por el LNR en el marco de la emergencia sanitaria por COVID-19.
- Cumplir con el lineamiento técnico sobre verificación de métodos moleculares por parte de la red ampliada de diagnóstico de SARS-CoV2 y Protocolos de verificación de pruebas moleculares RT-qPCR y POCT para la detección de SARS - CoV2, las cuales están disponibles en <http://www.ins.gov.co/Paginas/BibliotecaDigital/covid-redes.aspx>

Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR):

- Procesar las muestras de laboratorios con centinelas ESI (Enfermedad Similar a Influenza), IRAG sin capacidad diagnóstica.
- Procesar las muestras de IRA inusitado y casos de mortalidades (tejidos) notificadas desde los LSP departamentales y distrital.
- Realizar pruebas de laboratorio para la confirmación de casos con el diagnóstico diferencial incluyendo Influenza A y B, SARS-CoV2, Virus Sincitial Respiratorio, y Adenovirus, teniendo en cuenta las definiciones de caso y la disponibili-

dad de insumos.

- Estandarizar e implementar técnicas de diagnóstico para virus respiratorios y realizar la transferencia a los laboratorios de la red nacional cuando aplique.
- Capacitar / brindar asistencia técnica en el diagnóstico por laboratorio a los LSP departamentales y distrital.
- Participar en programas de evaluación del desempeño de entidades rectoras internacionales, de acuerdo con los cronogramas que sean establecidos.
- Notificar muestras a CDC y/o OPS de los casos con potencial pandémico de acuerdo con los

cronogramas definidos por estas instituciones.

- Procesar y emitir resultados para los laboratorios que remiten muestras al LNR y que previamente han cumplido con el registro de la información en LABMUESTRAS-SIVILAB y los demás requisitos descritos en el presente lineamiento.
- Cumplir con las actividades del NIC (Centro Nacional de Influenza) y garantizar su implementación en el LNR.
- Apoyar las actividades de la vigilancia epidemiológica dentro del Instituto Nacional de Salud, de acuerdo con las estrategias actualmente definidas.

8. VIGILANCIA GENÓMICA DE SARS-CoV-2

Dentro de las estrategias de vigilancia definidas desde la Organización Panamericana de la Salud e implementadas en Colombia, los casos positivos de SARS-CoV-2 son susceptibles de estudios genómicos para caracterización de variantes circulantes en las diferentes regiones del país. Esta vigilancia es liderada desde el Instituto Nacional de Salud, con el acompañamiento de laboratorios especializados que conforman la red nacional de secuenciación genómica (SARS-CoV-2).

Todos los laboratorios de la red ampliada de diagnóstico de COVID-19 en el país, deben almacenar las muestras procesadas teniendo en cuenta las directrices técnicas definidas en los comunicados y actualizaciones de estos emitidos por el INS, y los diseños de trabajo coordinados con la Dirección de Investigación en Salud Pública del INS.

Para la garantía de resultados de la vigilancia genómica, la temperatura de almacenamiento es fundamental en la integridad de los ácidos nucleicos; de esta manera, muestras primarias y/o extractos de ARN (eluidos) deberán conservarse en ultracongelación (-70°C) hasta su uso. Esta temperatura idealmente debe mantenerse durante su transporte hasta el laboratorio que realizará los análisis genómicos.

Tamizaje de variantes del virus SARS-CoV-2

Los ensayos de secuenciación genómica de SARS-CoV-2 están destinados a definir cuales variantes se encuentran actualmente circulando en el país y su frecuencia. Esta vigilancia se fundamenta, entre otros factores, por las posibles diferencias en infectividad, riesgo de contagio, y virulencia que afectan el comportamiento epidemiológico de la enfermedad.

La Organización Panamericana de la Salud ha propuesto la necesidad de generar estrategias para distribuir los esfuerzos en estos programas de vigilancia ante la elevada confirmación de casos en países con limitaciones técnicas y presupuestales. La experiencia técnica y científica en diversos países ha propuesto la opción de realizar pruebas de amplificación genómica por RT-PCR usando los segmentos genéticos característicos de las mutaciones como blanco de detección.

Como parte de las estrategias para la vigilancia de variantes de SARS-CoV-2 en Colombia, se recomienda que todos los LSP departamentales y distrital y su red de laboratorios colaboradores puedan implementar estos ensayos de tamizaje para el alcance de dos posibles objetivos:

1. Obtener información rápida de la posible circulación de variantes de preocupación en una región particular, especialmente en aquellas donde no se ha notificado previamente.
2. Priorizar los ensayos de secuenciación cuando se presenten casos positivos simultáneos de la misma región.

Estos ensayos de RT-PCR se encuentran estandarizados por diversos laboratorios de casas comerciales, instituciones académico-científicas y por la OPS. En el primer caso, existen comercialmente opciones disponibles en el mercado, que implican diseños estandarizados para la detección de diversas mutaciones. En los otros casos, existe bi-

bliografía científica que describe secuencias de iniciadores que pueden ser sintetizados para su uso, teniendo en cuenta la necesidad de realizar previamente los procesos de verificación de las metodologías que se deseen implementar.

El LNR realiza actualmente ensayos de RT-PCR en tiempo real para detección de variantes de preocupación, como un modelo de tamizaje (screening) en las muestras que son enviadas y notificadas desde las entidades territoriales a los cuales se realiza apoyo en la detección de SARS-CoV-2. De esta manera, el protocolo de trabajo en el LNR-virología comprende los siguientes pasos:

1. Realización de RT-PCR para detección de SARS-CoV-2
2. Realización de RT-PCR de tamizaje para variantes de preocupación en las muestras que resultan positivas para SARS-CoV-2
3. Envío de muestras positivas a la Dirección de Investigación del INS para realizar los ensayos de secuenciación, teniendo especial atención en aquellas positivas para variantes de preocupación.

El protocolo de RT-PCR fue compartido por la OPS, y podrá ser transferido por el LNR a los LSP que deseen su implementación y cuya capacidad actual permita su viabilidad y sostenibilidad, sin perjuicio de que decidan usar otros modelos de tamizaje, incluyendo las opciones comerciales que los laboratorios deberán verificar previamente.

