



Podrobná zpráva ke dni 20. 8. 2021

Charakterizace viru SARS-CoV-2 v České republice dle diskriminačních PCR a celogenomové sekvenace

Národní referenční laboratoř pro chřipku a nechřipková virová respirační onemocnění, SZÚ

Úvod:

NRL pravidelně analyzuje data a poskytuje MZČR i laboratořím týdenní přehledový dokument, jehož cílem je monitorovat šíření variant SARS-CoV-2, které se na území ČR vyskytují, poskytovat informace o nových potenciálních i reálných rizicích v souvislosti s šířením a evolucí viru SARS-CoV-2, poskytovat metodické pokyny vyšetřujícím laboratořím a poskytovat další kvalitativní i kvantitativní informace s cílem připravit na datech založené poklady pro laboratorní šetření a adekvátní nastavení protiepidemických opatření v ČR.

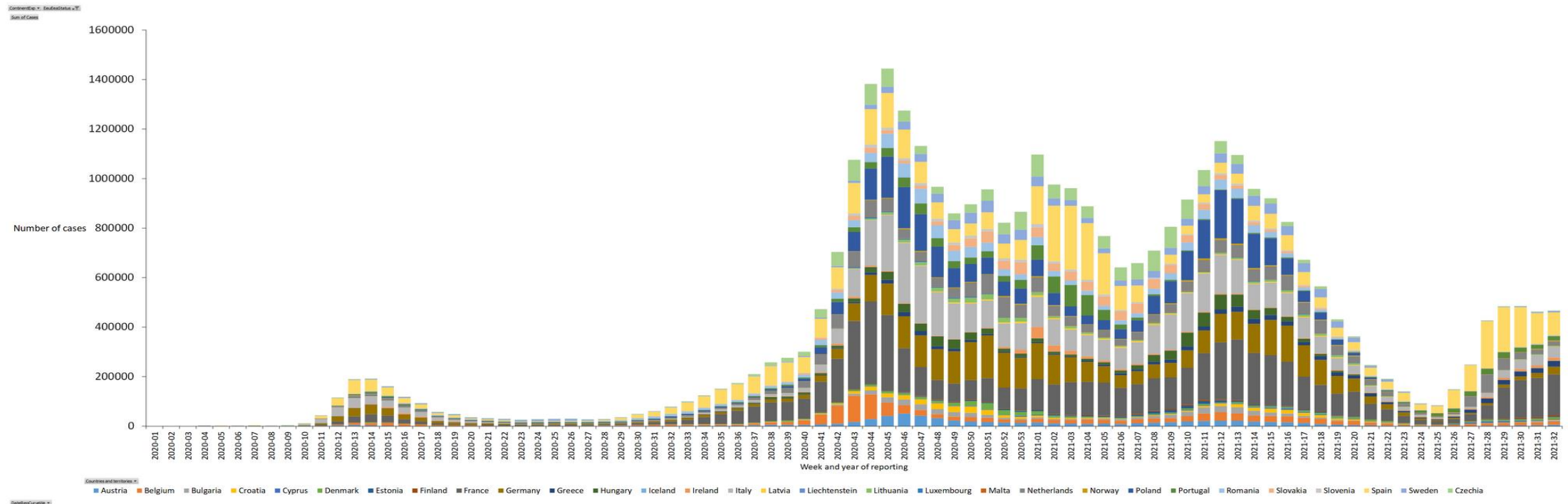
Obsah:

Souhrn	Strana 2, 3
Vyhodnocení dat z diskriminační PCR	Strana 4
Odborná doporučení NRL	Strana 5
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace	Strana 6 - 15
Závěr	Strana 16

- V rámci diskriminačních PCR bylo dle celorepublikových dat dostupných ve sledovaném 14-denním období od 6. 8. do 20. 8. 2021 vyšetřeno a nahlášeno do ISIN 1 738 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků (tabulka 1). Některé laboratoře ještě nemají export dořešen, přestože vyšetřují v souladu s doporučením NRL a dle pokynu MZ. Suspektní záchyt varianty delta činí ve sledovaném období kolem 95 %.
- Za rok 2021 bylo k 20. 8. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno celkem 6 770 SARS CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. V posledním týdnu bylo osekvenováno 295 vzorků, 130 WGS se vztahuje k datu odběru v srpnu.

Situace v zemích EU/EEA– souhrnná data 2020-2021 (32. KT)

Distribuce laboratorně potvrzených pozitivních detekcí v zemích EU/EEA od ledna 2021 je znázorněna na níže uvedeném grafu. Data z ČR odpovídají světle zelené. K nejzasaženějším zemím patří Chorvatsko (žlutá barva), Maďarsko (tmavě šedá). Data jsou k dispozici na stránkách ECDC.



V období od 6. 8 do 20. 8. 2021 má NRL k dispozici data z 2105 provedených testů diskriminační PCR z celkem 72 laboratoří. Na základě analýzy těchto dat NRL zjistila, že varianta delta je přítomná přibližně v 95 % pozitivních případů vyšetřených diskriminační PCR (viz tab. 1). Na všechny ostatní varianty VOC (variants of concern), včetně dříve dominantní varianty alfa, připadá kolem 1 % záchytů. Cca 3 % vzorků nelze dle diskriminační PCR zařadit.

Tabulka 1: Přehled důležitých sad mutací

Mutace	Celkem	Pozitivních	Podíl ze sady	Interpretace (pouze suspektní varianta)
L452R+	1925	1815	94,2 %	delta
E484K+	1651	19	1,1 %	beta, gama, alfa E484K+
L452R+, P681R+	413	384	92,9 %	delta
N501Y+	623	9	1,4 %	alfa, nebo jiná
A570D+	425	4	0,9 %	alfa

Diskriminační PCR:

Odborná doporučení NRL pro diskriminační PCR SARS-CoV-2 pozitivních vzorků se nemění. V případě, že laboratoř nevyšetřuje E484K a L452R v jedné reakci, doporučujeme jako první zařadit master mix obsahující próbu pro detekci L452R. Pokud je detekována jedna z těchto mutací jako pozitivní, není aktuálně nutné stanovovat E484K v další PCR. Do úvahy dáváme doporučení na sledování K417N, která je charakteristická pro AY.1 (subvarianta vyštěpená z delty). Tato mutace má podíl na vyšší transmisibilitě i escape charakteru.

- 1. Minimum – vždy povinné: E484K a L452R**
- 2. Možnost : E484K a L452R a N501Y**
- 3. Možnost : E484K a L452R a N501Y a K417N**
- 4. Možnost : E484K, L452R, N501Y, K417N a P681R**

Doporučení se mohou měnit v souvislosti se změnami SARS-CoV-2 a s epidemickou situací.

Za rok 2021 bylo k 20. 8. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno celkem 6 770 SARS CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. V posledním týdnu bylo osekvenováno 295 vzorků, 130 WGS se vztahuje k datu odběru v srpnu. Od června je dosažen podíl sekvenací odpovídající 10 % pozitivních PCR detekcí SARS-CoV-2.

Podíl původní varianty delta je v měsíci srpnu 76,9 %. Nově zaznamenáváme dle celogenomové sekvenace nárůst sublinií delta varianty - AY.12 a AY.4, které se šíří například v Izraeli (dominance AY.12), ve Spojených státech nebo ve Spojeném království a dalších zemích včetně ČR (viz tab. 2).

Podíl AY.4 je 13,2 %, AY.12 pak 7 % (v ČR).

Vzhledem k faktu, že všechny AY.x lze taxonomicky a nomenklaturně zařadit jako delta +, lze konstatovat, že jednoznačně dominuje delta varianta a detekce odpovídají 97% až 99% záchyty. Skupina AY.x je vývojově odvozena od delta varianty, jednotlivé AY.x pravděpodobně nemají monofyletický původ a vznikají konvergentní evolucí na více místech.

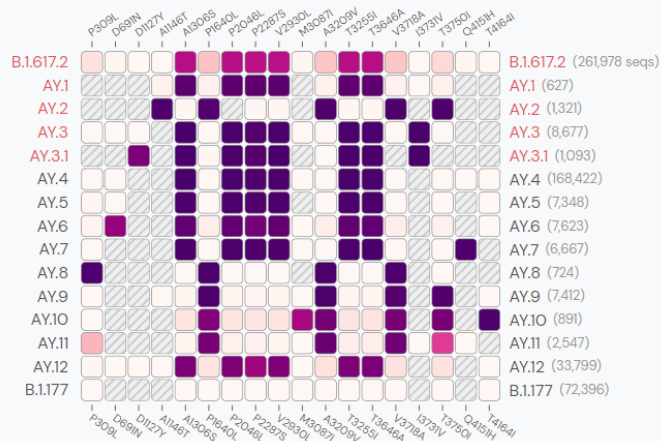
Tabulka 2. Přehled detekcí AY.x (delta +) dle krajů

Kraj	Varianta	Počet
Jihomoravský kraj	AY.12	7
Olomoucký kraj	AY.12	0
Pardubický kraj	AY.12	0
Vysočina	AY.12	1
Zlínský kraj	AY.12	1
Jihomoravský kraj	AY.4	6
Olomoucký kraj	AY.4	1
Pardubický kraj	AY.4	1
Vysočina	AY.4	11
Zlínský kraj	AY.4	0



Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace – zastoupení aminokyselinových substitucí v genech jednotlivých sublinií delta + varianty

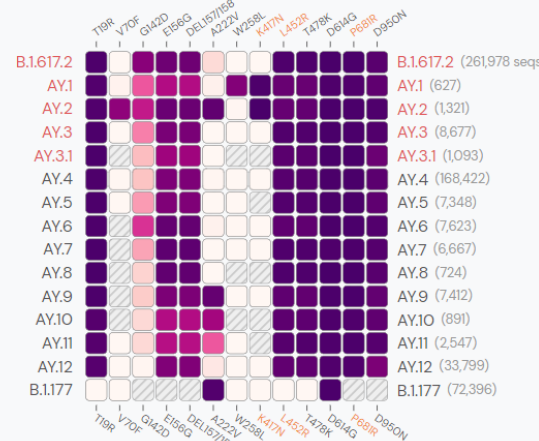
ORF1a



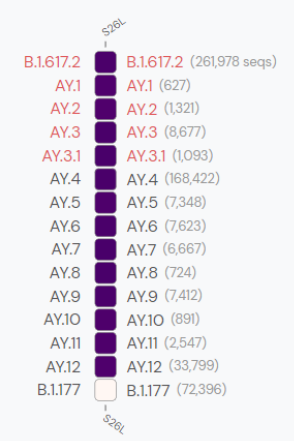
ORF1b



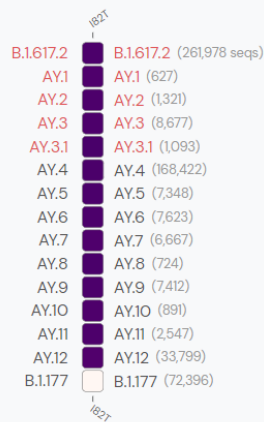
S



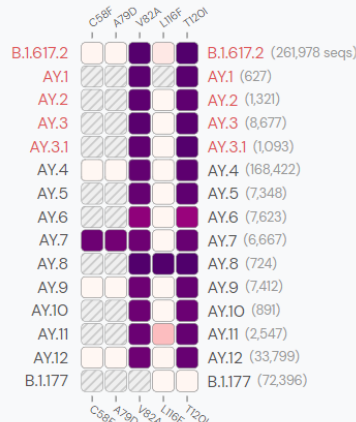
ORF3a



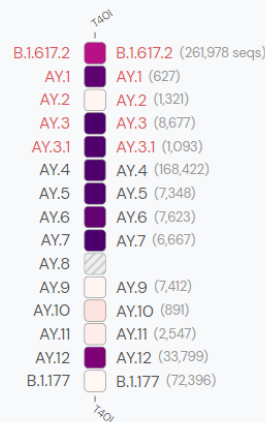
M



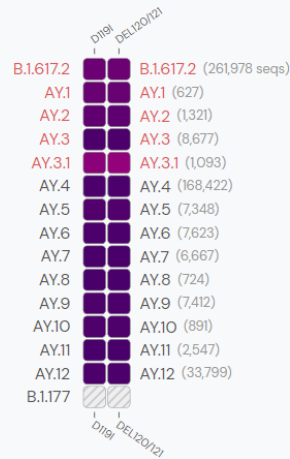
ORF7a



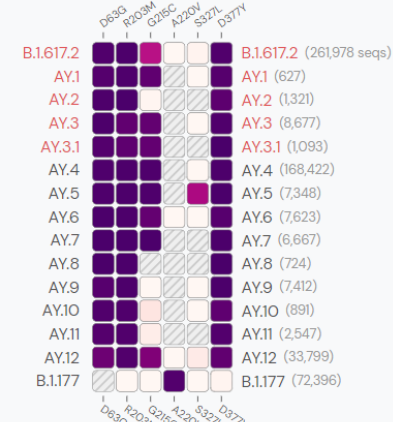
ORF7b



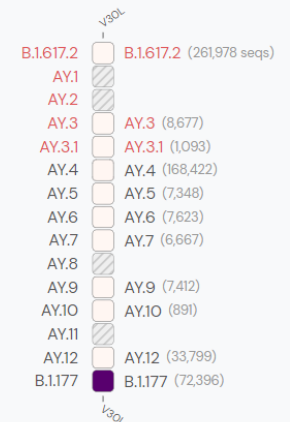
ORF8



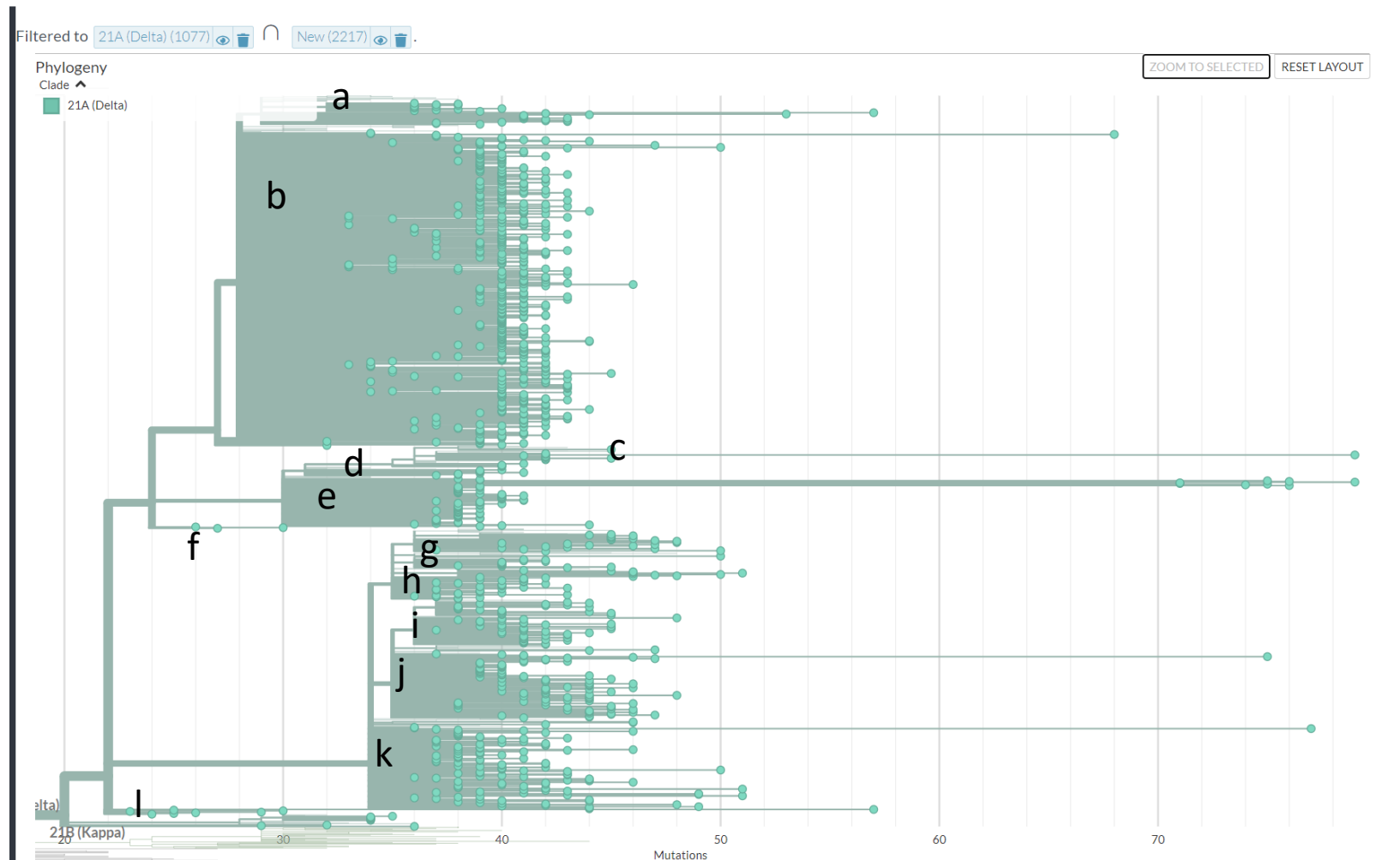
N



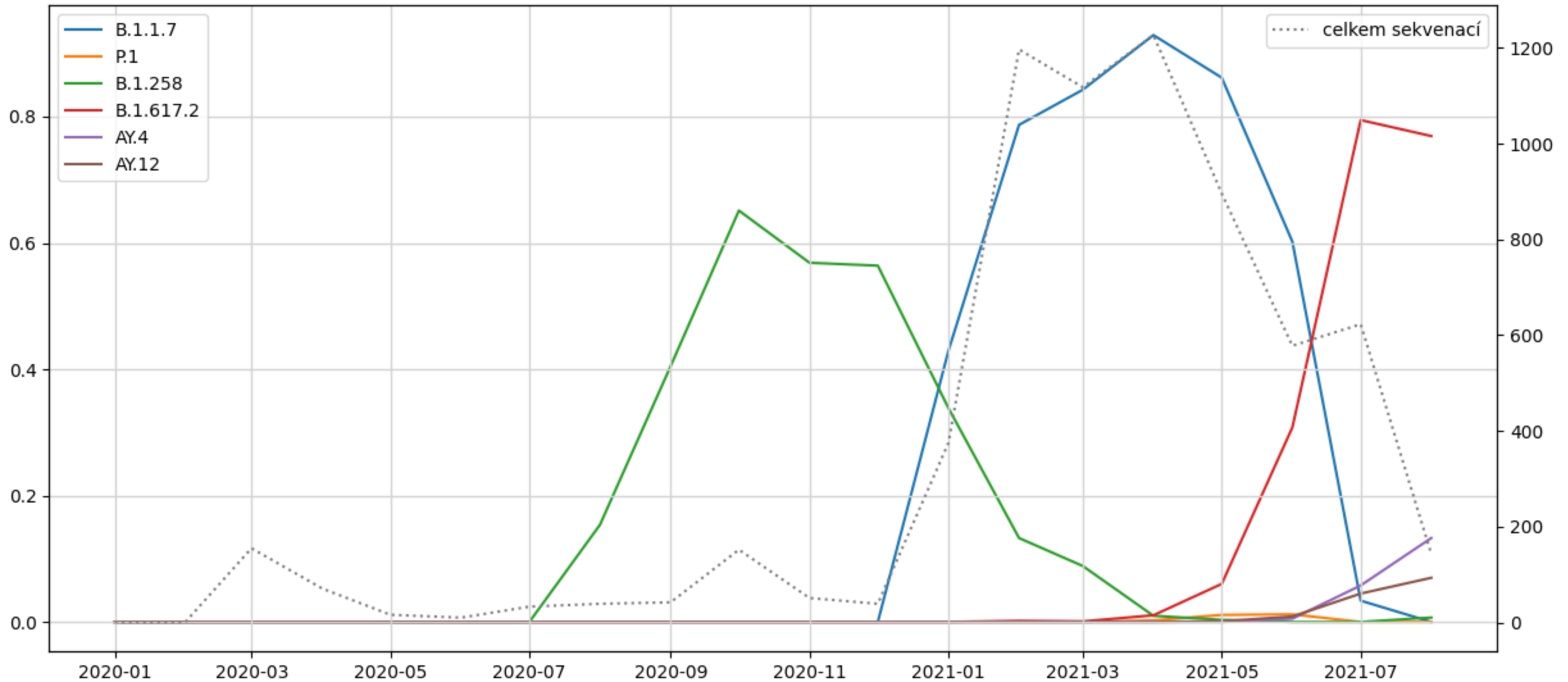
ORF10



Fylogenetický strom delta varianty naznačuje štěpení do skupin (označeno a až l), nicméně, tyto skupiny neodpovídají nomenklaturní definici AY.x. Pravděpodobně dojde k dalším změnám v taxonomii AY.x sublinií delta.



Z grafu je vidět počínající nárůst AY.4 a AY.12.

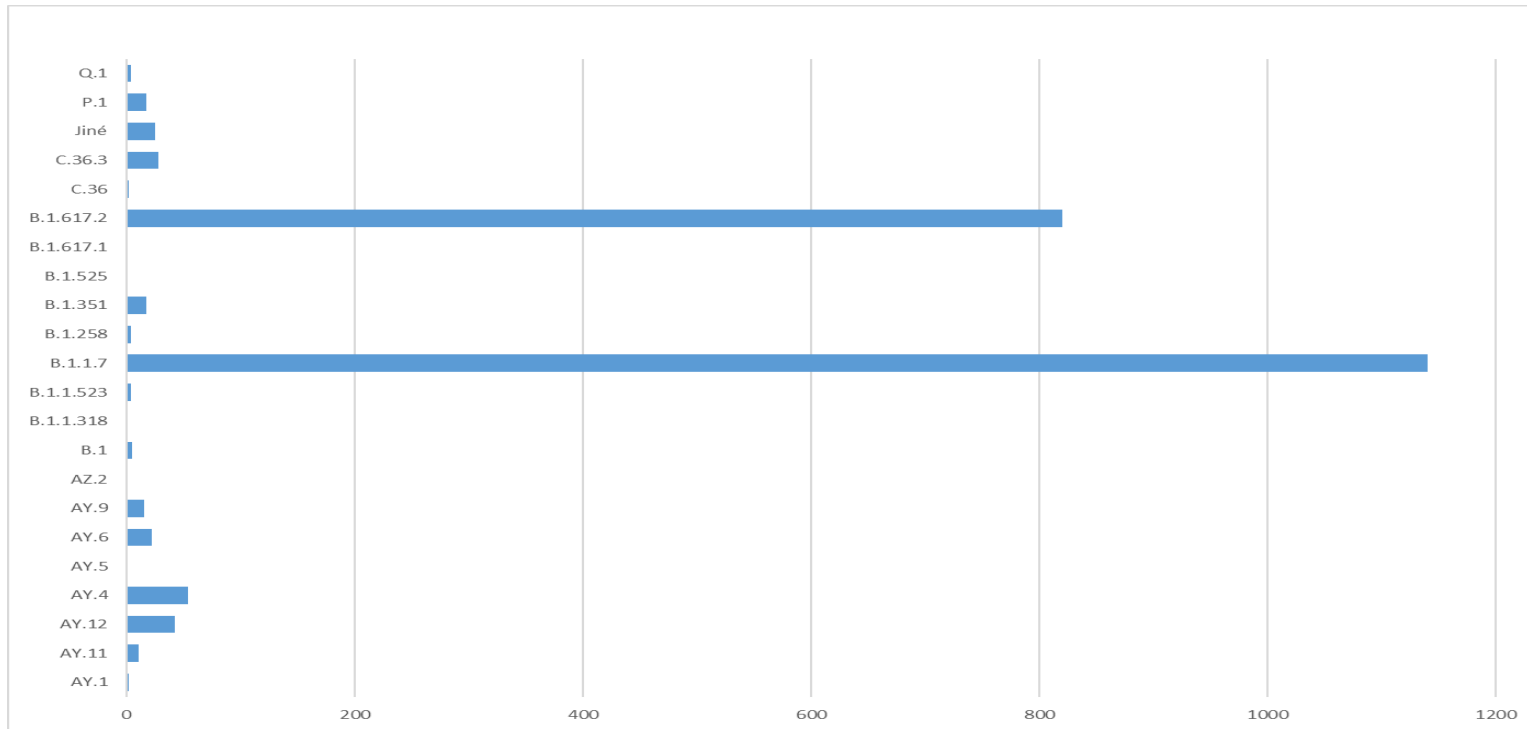


Přehled všech variant dle sekvenace za červen – srpen 2021

Varianta	Měsíc	Počet	Varianta	Měsíc	Počet	Varianta	Měsíc	Počet
A	červen	2	B.1.258	červenec	0	C.36.3	srpen	0
B.1.258	červen	0	A	červenec	0	B.1.525	srpen	0
B.1.177	červen	0	B.1.177	červenec	1	B.1.351	srpen	0
B.1.525	červen	0	B.1.1.7	červenec	21	B.1.617.2	srpen	110
B.1.1.7	červen	324	AY.1	červenec	1	B.1.1	srpen	0
B.1.1.523	červen	1	B.1.525	červenec	1	B.1.177	srpen	0
B.1.1.236	červen	2	B.1.1.523	červenec	0	B.1.1.7	srpen	0
B.1.1	červen	1	B.1.1.236	červenec	0	B.1.1.523	srpen	0
B.1.617.2	červen	174	P.1	červenec	0	B.1.1.236	srpen	0
B.1	červen	2	AY.4	červenec	36	B.1	srpen	0
AY.9	červen	0	AY.11	červenec	10	AZ.2	srpen	0
C.36.3	červen	8	AY.5	červenec	1	AY.9	srpen	2
AY.6	červen	9	C.36.3	červenec	0	AY.6	srpen	1
AY.5	červen	0	AY.6	červenec	5	AY.5	srpen	0
AZ.2	červen	0	AY.12	červenec	28	AY.4	srpen	19
B.1.351	červen	2	AY.9	červenec	13	AY.12	srpen	10
AY.4	červen	3	B.1.351	červenec	1	AY.11	srpen	0
P.1	červen	7	B.1.1	červenec	1	AY.1	srpen	0
AY.1	červen	1	B.1.617.2	červenec	495	A	srpen	0
AY.12	červen	5	B.1	červenec	2	B.1.258	srpen	1
AY.11	červen	0	AZ.2	červenec	1	P.1	srpen	0

Přehled detekovaných linií SARS-CoV-2 po nomenklaturním taxonomickém přepočtu 9. 8. 2021.

Došlo ke změně kategorizace některých WGS, a to z delta VOC (B.617.2) na AY.x. V ČR je z těchto sublinií nejvíce zastoupena či naznačuje nárůst linie AY.4 a AY.12, což odpovídá situaci i v sousedních zemích. Na dalších 5 stránkách je znázorněn celkový přehled a postupný přechod ze situace odpovídající dominanci alfa na situaci odpovídající dominanci delta či delta +.



Linie	Počet	VOC/VOI
AY.1	2	Delta+
AY.11	10	Delta+
AY.12	42	Delta+
AY.4	54	Delta+
AY.5	1	Delta+
AY.6	22	Delta+
AY.9	15	Delta+
AZ.2	1	B.1.1.318 like
B.1	5	
B.1.1.318	1	
B.1.1.523	4	
B.1.1.7	1141	Alfa+
B.1.258	4	
B.1.351	17	
B.1.525	1	Eta
B.1.617.1	1	Kapa
B.1.617.2	820	Delta
C.36	2	
C.36.3	28	
Jiné	25	
P.1	17	Gamma
Q.1	4	Alfa+

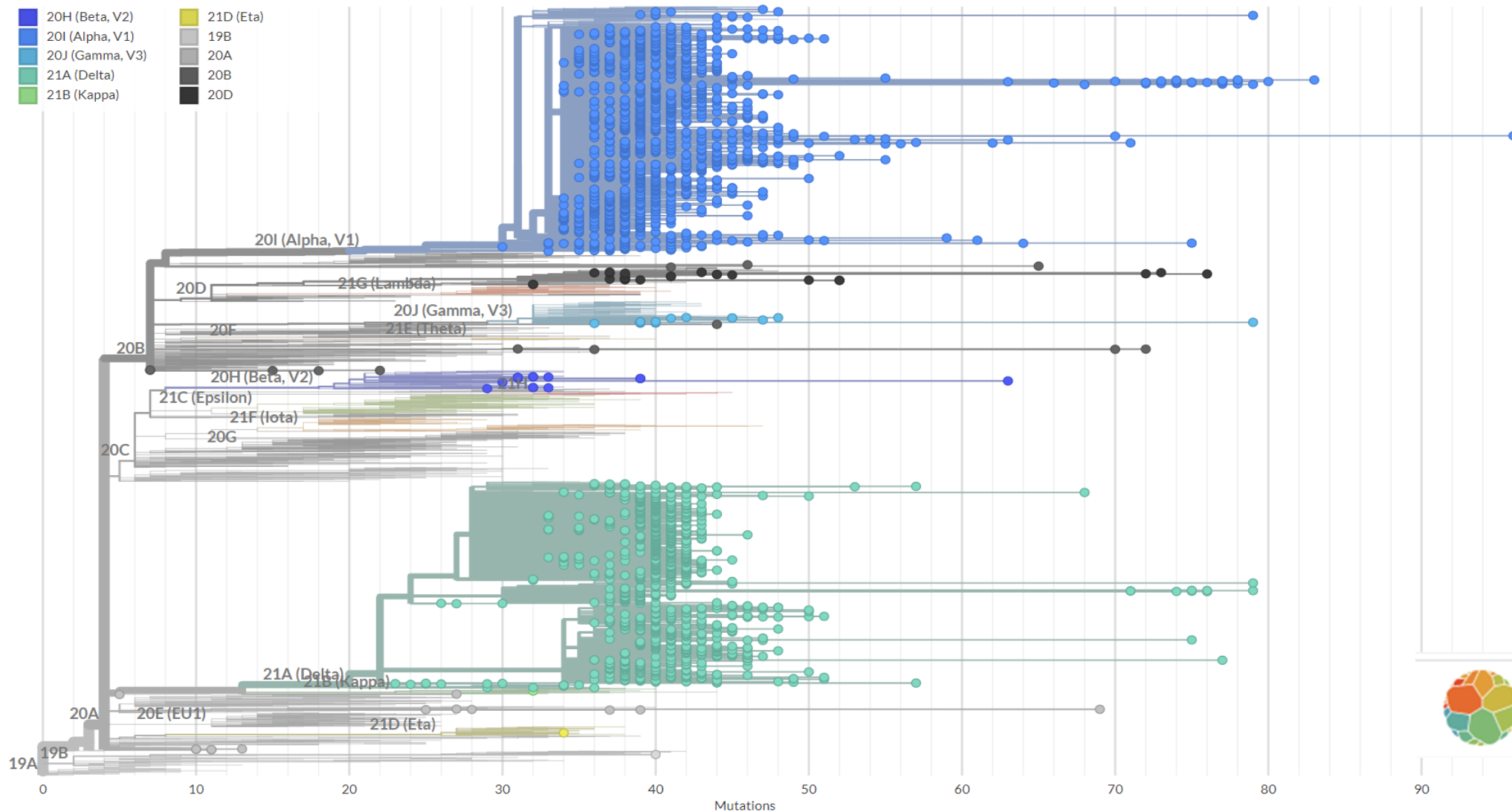
Filtered to New (2217)

ZOOM TO SELECTED RESET LAYOUT

Phylogeny

Clade ^

- 20H (Beta, V2)
- 20I (Alpha, V1)
- 20J (Gamma, V3)
- 21A (Delta)
- 21B (Kappa)
- 21D (Eta)
- 19B
- 20A
- 20B
- 20D



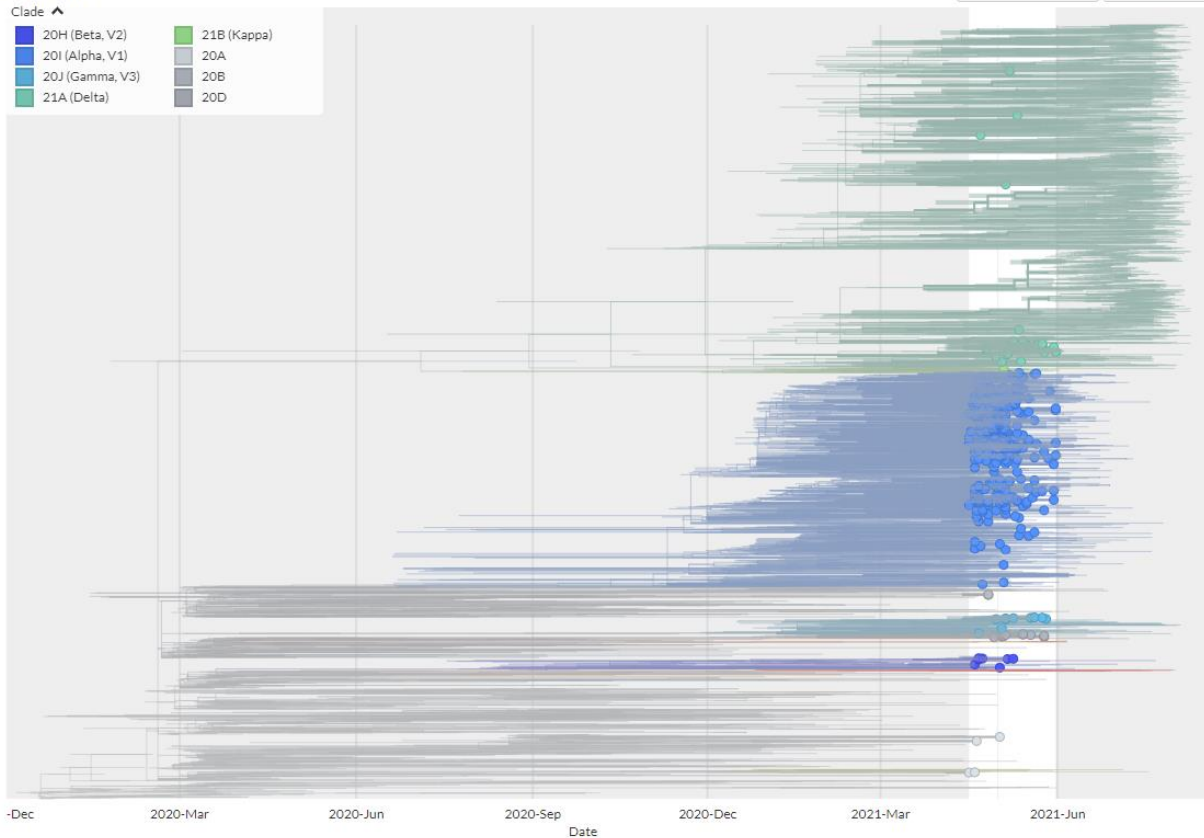
Podíly variant v jednotlivých krajích jsou dány nerovnoměrnou sekvenací s cíleným výběrem vzorků. Je vidět poměrně časná introdukce varianty delta do některých krajů.

SARS-CoV-2 phylogeny

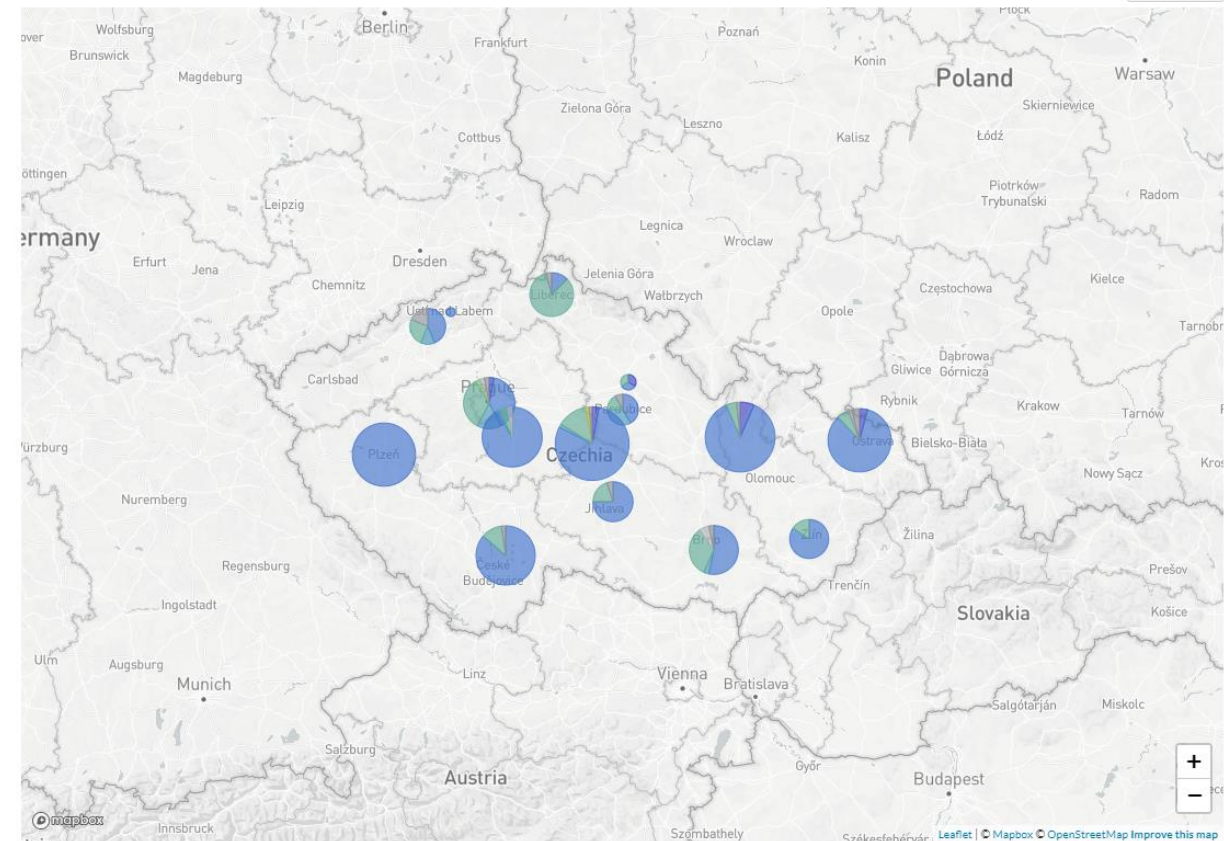
Built with neherlab/ncov-europe. Maintained by Emma Hodcroft and Richard Neher. Enabled by data from GISAID.

Showing 344 of 2993 genomes sampled between Apr 2021 and May 2021. Filtered to Czech Republic (1147) Apr 2021 to May 2021

Phylogeny



Geography



SARS-CoV-2 phylogeny

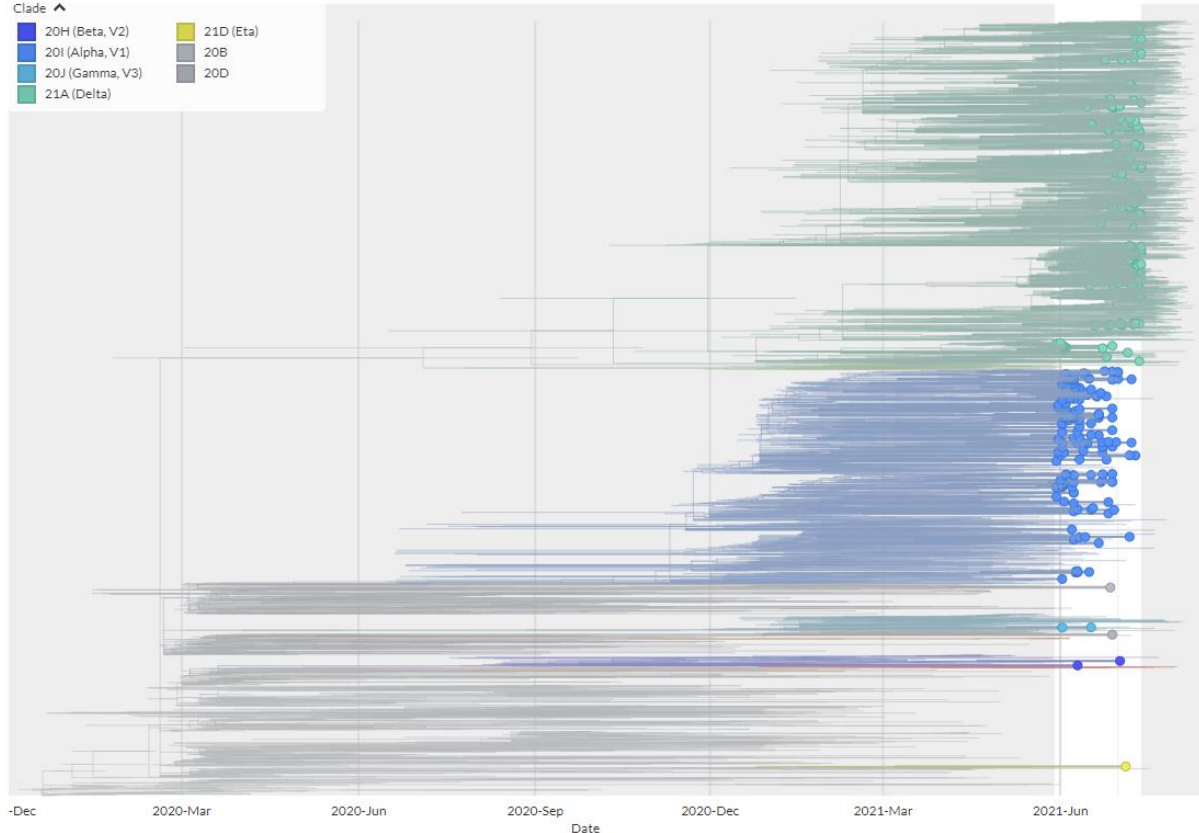
Built with [neherlab/ncov-europe](#). Maintained by [Emma Hodcroft](#) and [Richard Neher](#). Enabled by data from [GISAID](#).

Showing 393 of 2993 genomes sampled between May 2021 and Jul 2021. Filtered to [Czech Republic \(1147\)](#) [May 2021 to Jul 2021](#) .

Phylogeny

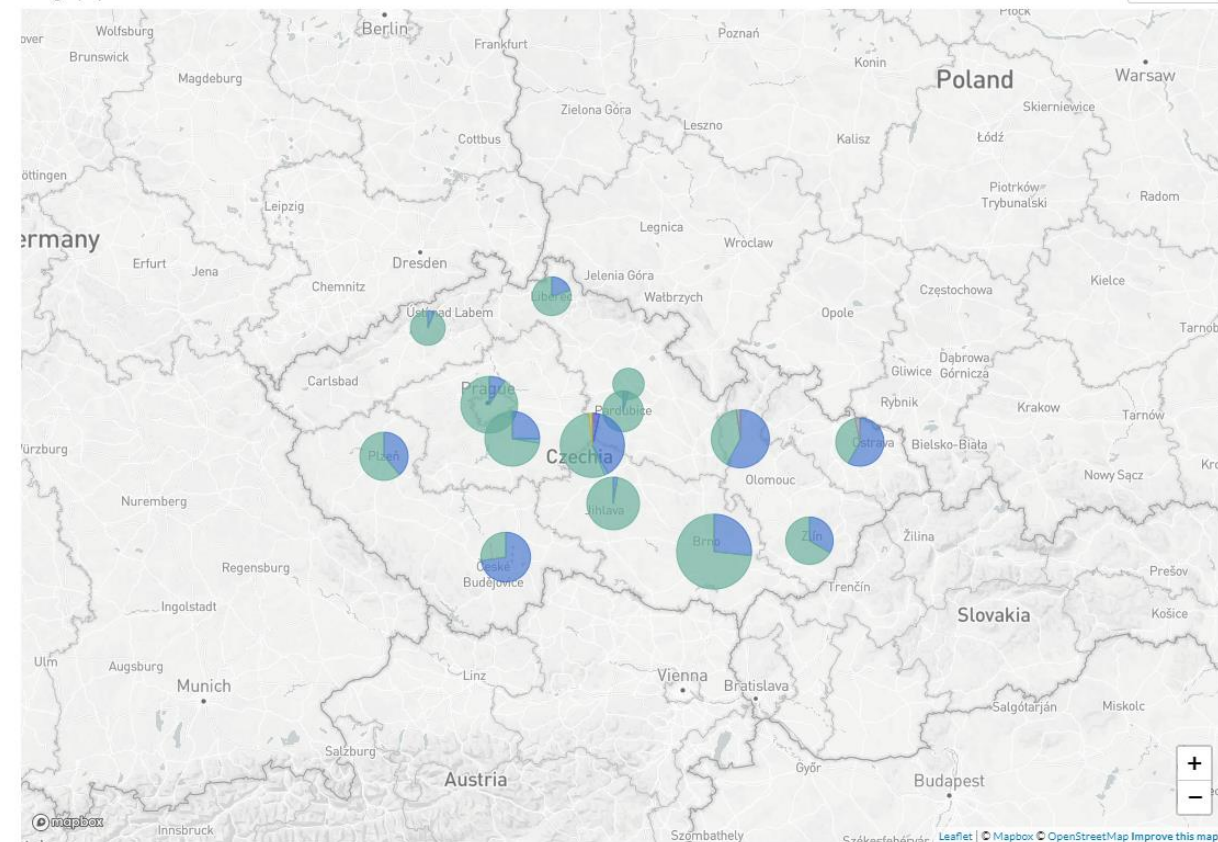
Clade

- 20H (Beta, V2)
- 20I (Alpha, V1)
- 20J (Gamma, V3)
- 21A (Delta)
- 21D (Eta)
- 20B
- 20D



Geography

[RESET ZOOM](#)

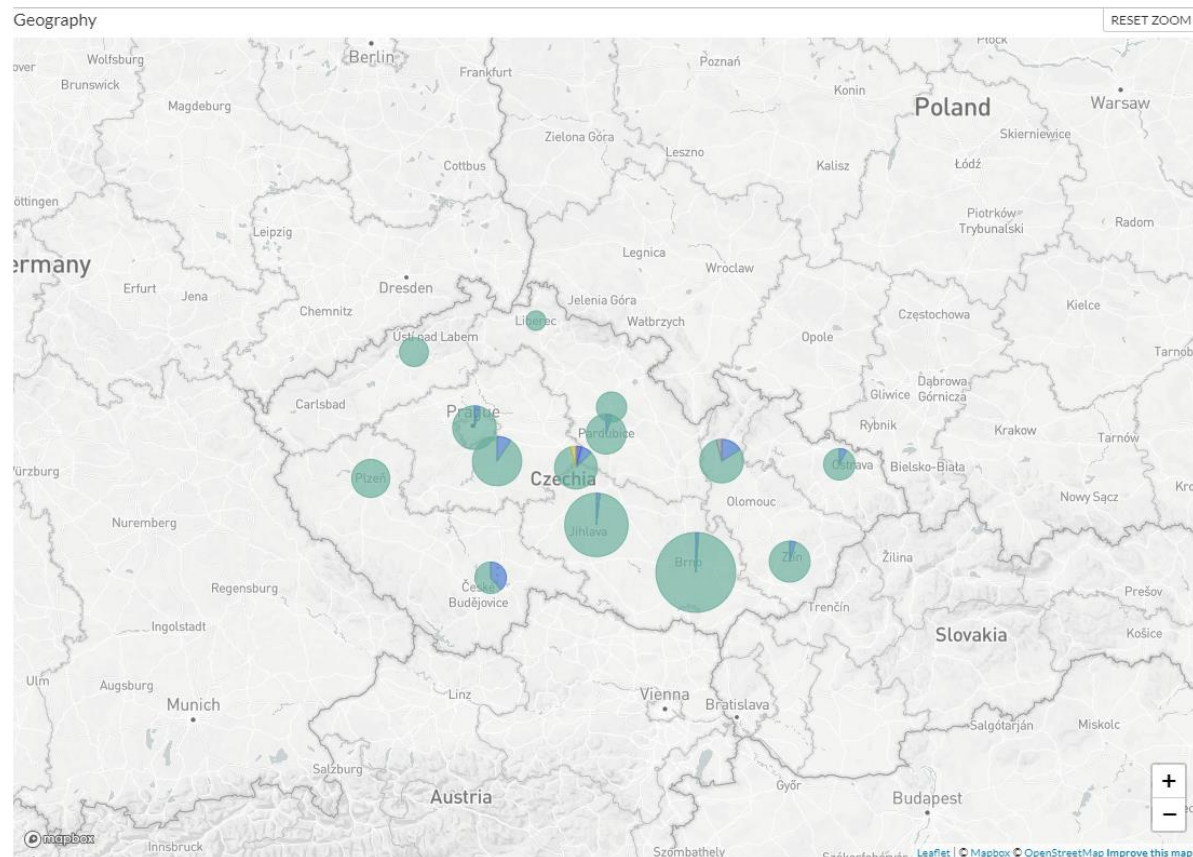
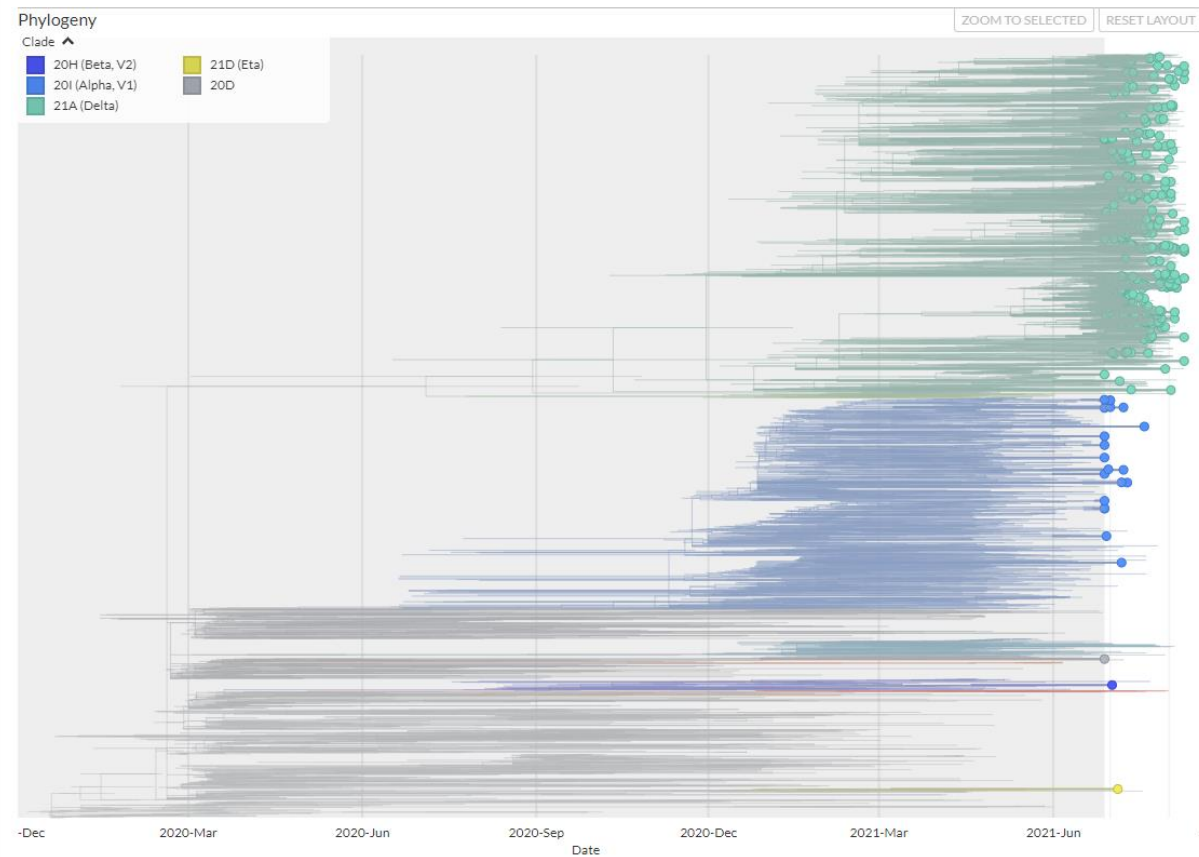


Varianta alfa se stále minoritně uplatňuje, a to především v Jihočeském kraji a na Olomoucku.

SARS-CoV-2 phylogeny

Built with neherlab/ncov-europe. Maintained by Emma Hodcroft and Richard Neher. Enabled by data from [GISAID](#).

Showing 359 of 2993 genomes sampled between Jun 2021 and Aug 2021. Filtered to [Czech Republic \(1147\)](#) [Jun 2021 to Aug 2021](#).



Závěr:

V rámci diskriminačních PCR v ČR bylo vyšetřeno v období od 6. 8. do 20. 8. 2021 celkem 2 105 vzorků z celkem 72 laboratoří. Podezření na detekci varianty delta bylo vysloveno u 95 % vzorků. Ostatní linie jsou minoritní, pod 1 % vzorků. Zhruba 3 % vzorků nelze dle diskriminační PCR zařadit.

Vzorků se srpnovým datem odběru bylo sekvenováno 143. Za červen a červenec bylo dosaženo kýženého 10% podílu sekvenovaných vzorků. Na variantu delta připadá 97,2 % vzorků, z toho je 76,9 % původní varianta delta (B.1.617.2) a 13,2 % a 7 % sublinie AY.4 respektive AY.12.

Na základě kombinovaných dat z diskriminační PCR za posledních 14 dnů a celogenomové sekvenace SARS-CoV-2 za srpen je zřejmé, že stále přetrvává dominance varianty delta. Narůstá podíl AY.4 a AY.12, které jsou pravděpodobně zodpovědné za nárůsty počtu pozitivně testovaných i v dalších zemích. Nomenklaturní změna a vzorec pro výpočet variant dle Pango-lineage klasifikace byl změněn 9. 8. 2021. Účelem zavedení podrobné klasifikace je umožnění lepšího vyhodnocení epidemické situace. Nicméně, všechny AY.x lze stále považovat za skupinu delta plus. Definice subvariant/sublinií umožní lepší trasování a podrobnější sledování evoluce viru bez nutnosti aplikace bioinformatických znalostí. Nicméně, zatím klasifikace jednotlivých variant neodpovídají pozici ve fylogenetickém stromu, a proto bude pravděpodobně provedena reklasifikace těchto sublinií. Je tedy možné, že čísla a názvy se v dalších zprávách retrospektivně změní.

RNDr. Helena Jiřincová

MUDr. Jan Moskalyk