



Podrobná zpráva ke dni 10. 9. 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, SZU

Úvod:

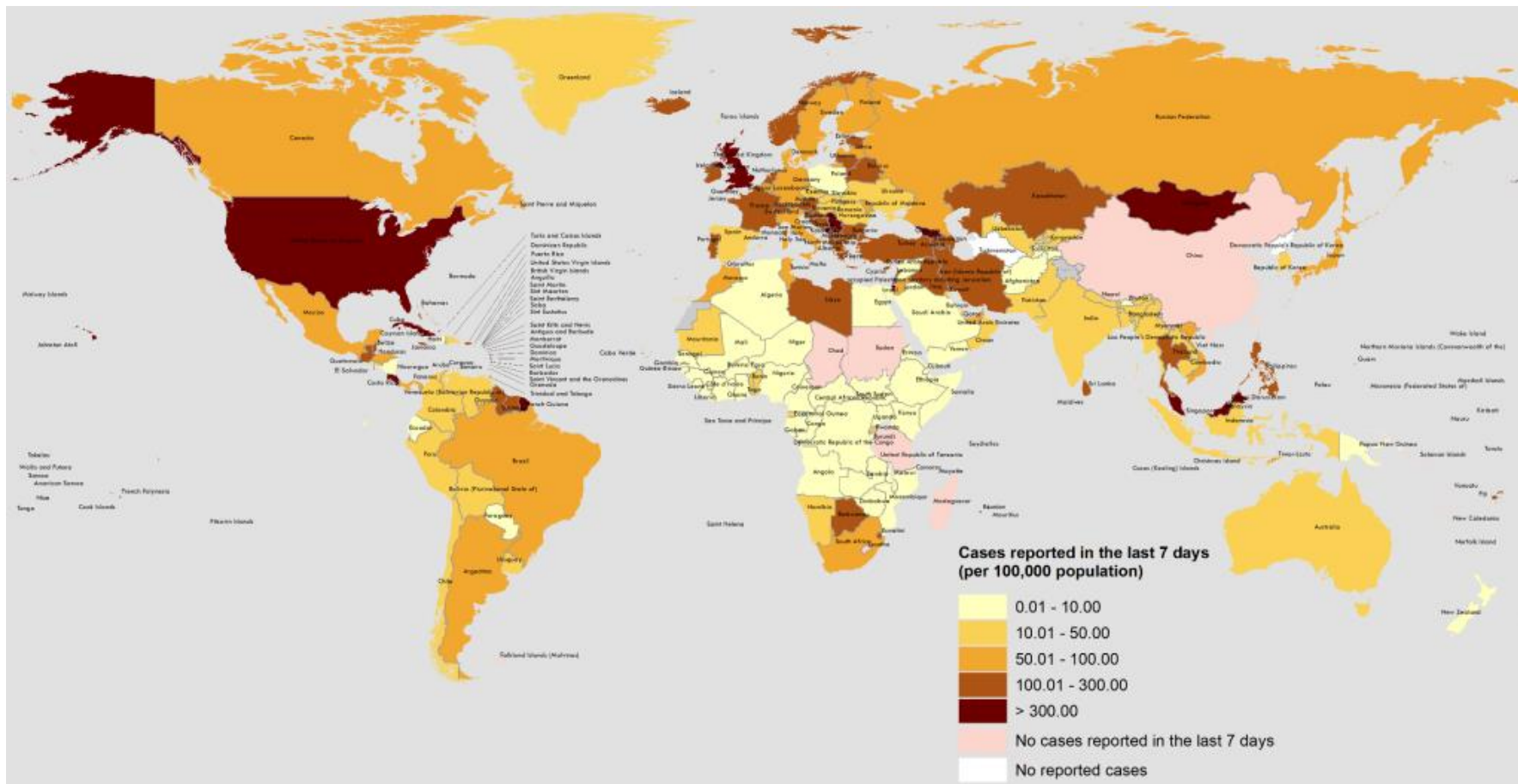
NRL pravidelně analyzuje data a poskytuje MZČR i laboratořím týdenní přehledový dokument, jehož cílem je monitorovat šíření variant SARS-CoV-2, které se na území ČR vyskytují, poskytovat informace o nových potenciálních i reálných rizicích v souvislosti s šířením a evolucí viru SARS-CoV-2, poskytovat 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
Vyhodnocení dat z diskriminační PCR	Strana 4
Odborná doporučení NRL a WHO	Strana 5, 6
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace	Strana 7 - 12
Závěr	Strana 13

- V období od 27. 8. do 10. 9. 2021 má NRL k dispozici data z 3 182 provedených testů diskriminační PCR z celkem 76 laboratoří. Podezření na detekci varianty delta bylo vysloveno u více než 95 % vzorků. Podezření na varianta alfa lze vyslovit u méně 1 % pozitivních detekcí. Dochází k nárůstu detekcí E484K a zároveň L452R.
- Za rok 2021 bylo k 10. 9. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 7 670 SARS CoV-2 pozitivních vzorků. Celkem 309 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 10. srpnem a 10. zářím. Podíl původní varianty delta období 10. 8. – 10. 9. je 56 %. Zaznamenáváme dle celogenomové sekvenace nárůst subvariant delta varianty - AY.4, AY.12, AY.9, AY.5.
- SZÚ bude 14.9. distribuovat EHK vzorky, sada bude obsahovat všechny VOC, proto NRL doporučuje nespotřebované izoláty RNA využít jako pozitivní kontroly pro používané diskriminační PCR soupravy.

Aktuální situace ve světě dle ECDC



Současná situace ve světě dle incidence za posledních 7 dní.

V období od 27. 8. do 10. 9. 2021 má NRL k dispozici data z 3 182 provedených testů diskriminační PCR z celkem 76 laboratoří. Na základě analýzy těchto dat NRL zjistila, že na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá stále přibližně 95 % pozitivních případů vyšetřených diskriminační PCR (viz tab. 1). Dříve dominantní varianta alfa se *téměř* nevyskytuje. Mírně narůstá podíl delta+ variant s E484K. Toto zjištění je v souladu s divergentní evolucí viru, který si hledá cesty, jak zvýšit svou nakažlivost.

Mutace	Celkem	Z toho pozitivních	Podíl ze sady	Interpretace (pouze suspektní varianta)
L452R+	2982	2844	95,3 %	delta, delta+
E484K+	2296	40	1,7 %	beta, gama, alfa E484K+, delta+
L452R+, E484K+	2240	30	1,3 %	delta+
N501Y+, L452R+	947	4	0,4 %	delta+
A570D+	701	2	0,2 %	alfa

V poslední době se objevují v rámci delta varianty nové kombinace mutací, např. N501Y a E484K, tyto kombinace byly v ČR detekovány v rámci diskriminačních PCR i sekvenace (N501Y) nebo pouze v rámci diskriminačních PCR (E484K). Pozorujeme mírně stoupající trend E484K v souvislosti s podezřením na delta + variantu, tedy při pozitivitě L452R některých případů delta varianty.

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, v souvislosti s nárůstem detekcí E484K u L452R pozitivních vzorků doporučujeme detekovat vždy obě dvě tyto mutace.

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. WHO doporučení ze dne 9. srpna 2021 uvádí stejné preferenční mutace (str. 5).

Zdroj: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/343775>

Dle fylogenetické analýzy a analýzy v nextclade doporučuje NRL tyto WGS revidovat na předchozí straně označené vzorky.

Při zadávání do GISAID je třeba dodržovat následující pravidla:

Pole „Location“ uvádět kraj takto:



South Bohemian Region
South Moravian Region
Hradec Kralove Region
Karlovy Vary Region
Liberec Region
Moravian-Silesian Region
Olomouc Region
Pardubice Region
Pilsen Region
Central Bohemian Region
Ustecky Region
Vysocina Region
Zlin Region
Prague Region

Do jména sekvence uvádět vždy akronym laboratoře:



Například:

hCoV-19/Czech Republic/**UMTM**239717/2021

hCoV-19/Czech Republic/**CSQ**0217/2021

GHC	GHC
BP	Biopstická laboratoř
KNL	Krajská nemocnice Liberec
FNP	Fakultní nemocnice Plzeň
FNHK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
FNO	Fakultní nemocnice Ostrava
CSQ	Fakultní nemocnice Brno

Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace (WGS):

Za rok 2021 bylo k 10. 9. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 7670 SARS CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. Celkem 309 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 10. srpnem a 10. zářím.

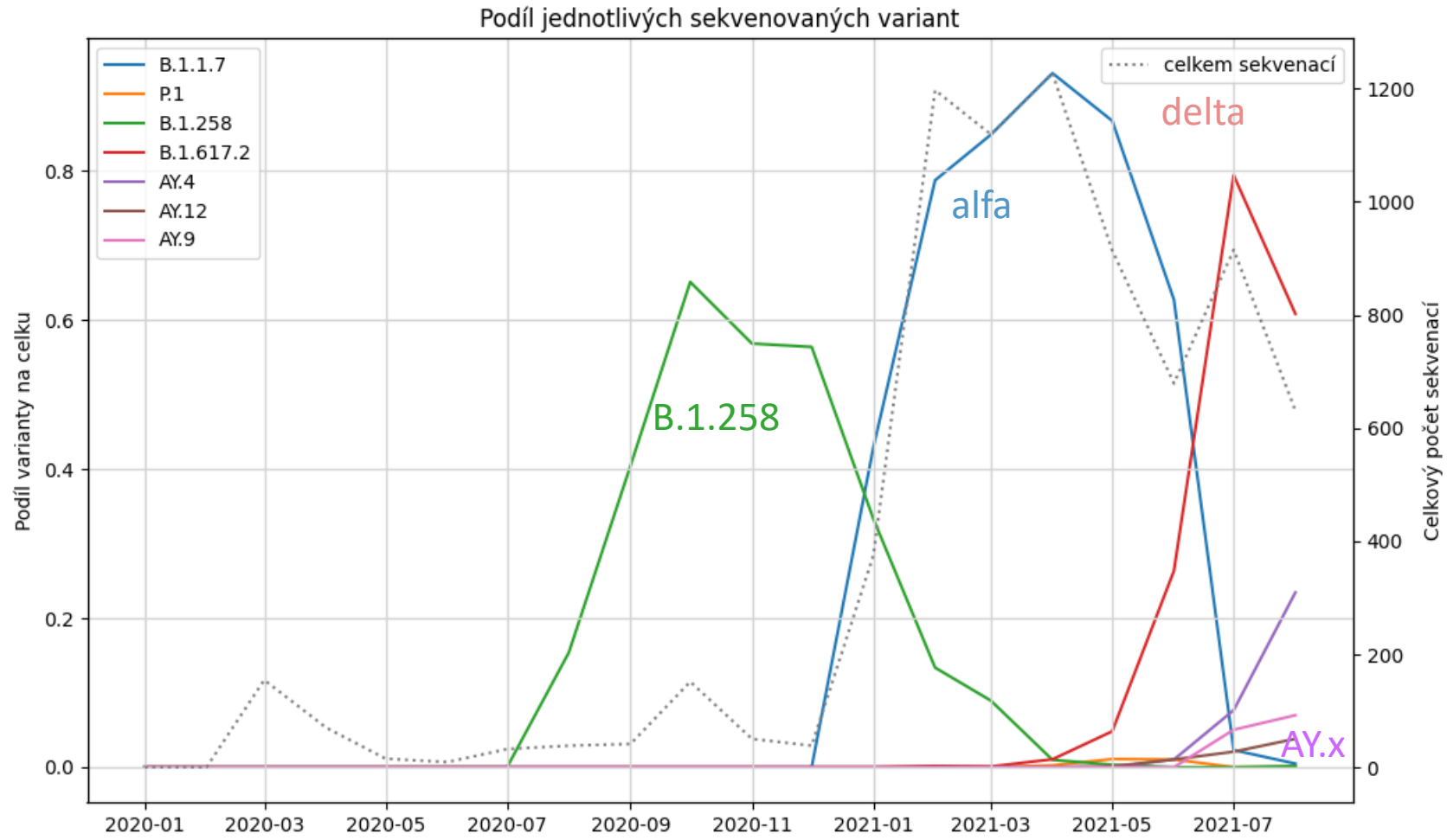
Podíl původní varianty delta období 10. 8 – 10. 9 je 56 %. Zaznamenáváme dle celogenomové sekvenace nárůst subvariant delta varianty - AY.4, AY.12, AY.9, AY.5, které se šíří i v dalších zemích. Podíl subvarianty AY.4 vzrůstá na úkor původní delta varianty její podíl v tomto období činí již **27,5 %**, podíl AY.9 je 5,5 %, podíl AY.12 je také 5,5 %, podíl AY.5 je 2,59 %. Podíl dalších subvariant AY.x činí méně než dvě procenta. V souvislosti s nárůstem detekcí mutací A222V, D253A a D979E se pravděpodobně tvoří další subvarianta v rámci AY.9 (podrobněji rozebírá zpráva COG CZ, COVID-19 Genomics CZ Consortium). Viz grafy na stranách 8 a 9.

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

Lokalita	Varian ta	Počet
Nezařazeno	AY.12	5
Moravskoslezský kraj	AY.12	3
Středočeský kraj	AY.12	2
Vysočina	AY.12	2
Jihomoravský kraj	AY.12	5
Olomoucký kraj	AY.4	10
Pardubický kraj	AY.4	2
Moravskoslezský kraj	AY.4	8
Praha	AY.4	3
Vysočina	AY.4	11
Středočeský kraj	AY.4	1
Nezařazeno	AY.4	5
Královéhradecký kraj	AY.4	8
Zlínský kraj	AY.4	9
Jihomoravský kraj	AY.4	28
Královéhradecký kraj	AY.6	1
Vysočina	AY.9	3
Moravskoslezský kraj	AY.9	5
Olomoucký kraj	AY.9	4
Jihomoravský kraj	AY.9	3
Nezařazeno	AY.9	1
Zlínský kraj	AY.9	1

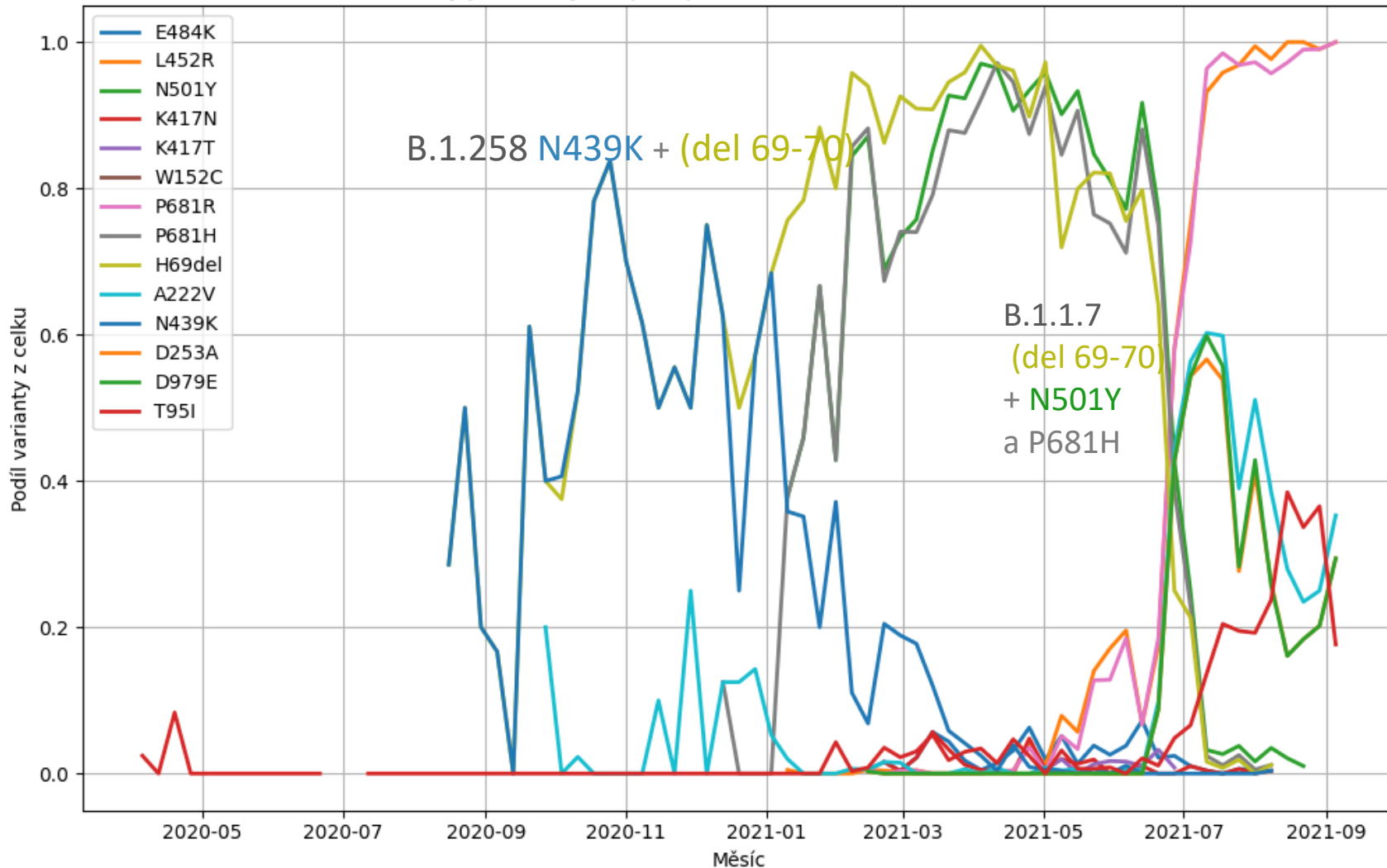
Podíl variant SARS-CoV-2 dominantních v ČR od března 2020 sekvenace

Z grafu je patrný nárůst AY.4 subvarianty.



Podíl dominantních mutací ve spike genu SARS-CoV-2 od března 2020

Podíly jednotlivých spike protein mutací ze všech sekvenací



B.1.617.2.x

L452R

P681R

AY.x

A222V

D253A

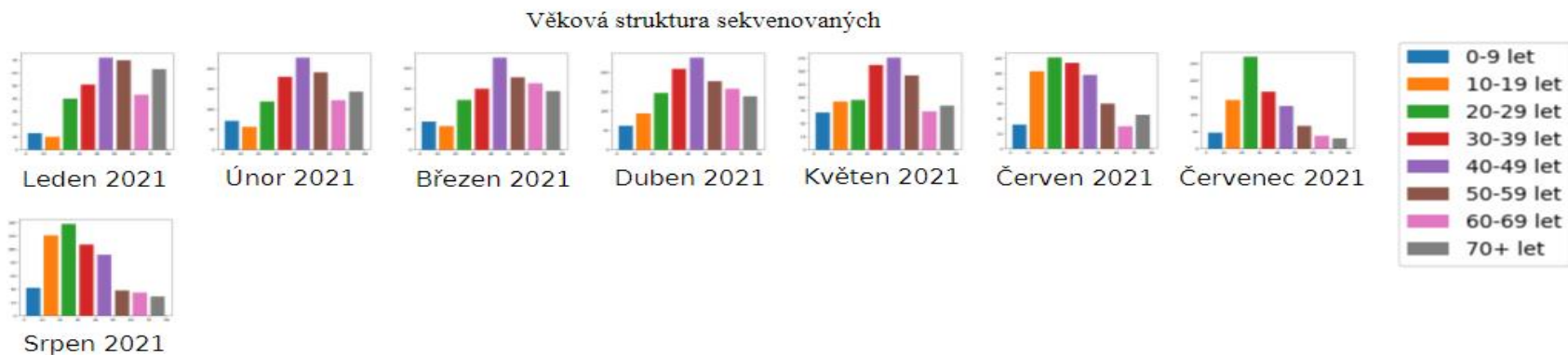
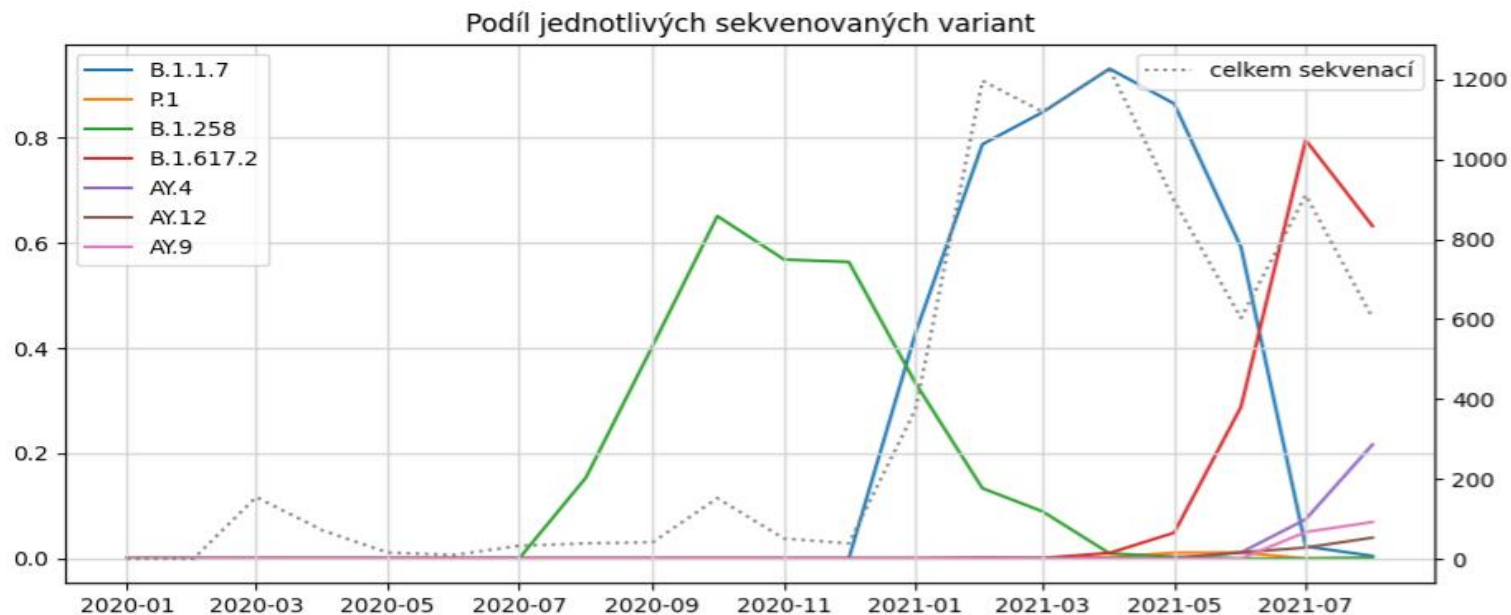
D979E

T95I

Trend detekce mutací se od minulého týdne nezměnil.

Věková struktura sekvenovaných v kontextu převažujících variant

V měsících lednu až květnu dominantní věková skupina 40 – 49 let je od června nahrazena dominující skupinou 20 – 29 let, přičemž od srpna 2021 pozorujeme nárůst i mladších věkových skupin, především 10 – 19, ale rostoucí trend lze pozorovat i u nejnižší věkové skupiny 0 – 9 let. Tento trend pravděpodobně kopíruje věkovou distribuci pozitivních detekcí a souvisí zřejmě s očkováním a sociálním chováním.

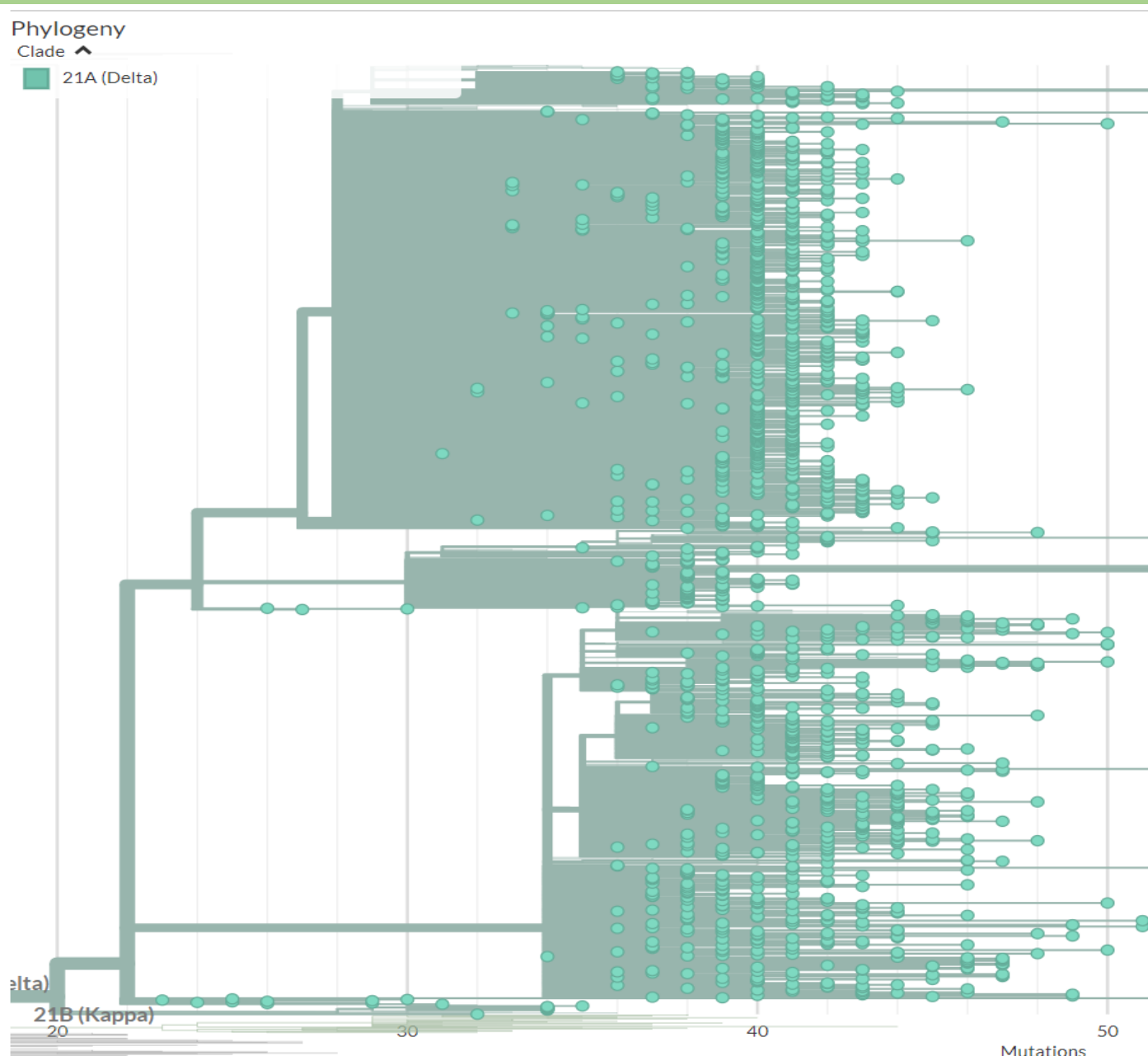


Přehled WGS detekovaných variant SARS-CoV-2 za srpen 2021

Opět proběhla nomenklaturní reklasifikace, aktuálně je definováno 25 subvariant AY.x, přičemž v některých jsou již definovány další sublinie.

Varianta	celkem	podíl	Dle WHO
B.1.617.2	280	66,83 %	Delta
AY.4	83	19,81 %	Delta +
AY.9	33	7,88 %	Delta +
AY.12	13	3,10 %	Delta +
B.1.1.7	2	0,48 %	Alfa
A.2.5.3	2	0,48 %	
AY.6	1	0,24 %	Delta +
AY.5	1	0,24 %	Delta +
B.1.258	1	0,24 %	
B.1.351	1	0,24 %	
AY.10	1	0,24 %	Delta +
AY.7.2	1	0,24 %	
Celkem	419	100 %	

Fylogenetický strom delta variant SARS-CoV-2 (1 500 WGS)



V období od 27. 8. do 10. 9. 2021 má NRL k dispozici data z 3 182 provedených testů diskriminační PCR z celkem 76 laboratoří. Na základě analýzy těchto dat NRL zjistila, že na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá stále přibližně 95 % pozitivních případů vyšetřených diskriminační PCR (viz tab. 1). Dříve dominantní varianta alfa se téměř nevyskytuje. Mírně narůstá podíl delta+ variant s E484K. Toto zjištění je v souladu s divergentní evolucí viru.

Přestože se může zdát, že vzhledem k jasné dominanci delta varianty nemá smysl konfirmovat pozitivní nálezy diskriminační PCR, z detekovaných mutací vyplývá, že role těchto PCR je nezastupitelná. Opakovaně se potvrzuje, že diskriminační PCR vzhledem k rychlé odezvě hrají důležitou roli v monitoringu variant viru, a je stále důležité i část PCR identifikovaných variant stále sekvenovat, jak dokazují stále častěji detekované nové sublinie u varianty delta. Prioritní mutace doporučené NRL se stále ukazují jako zásadní pro sledování evoluce viru. Doporučujeme vždy detekovat přítomnost obou povinně sledovaných mutací E484K a L452R

Za rok 2021 bylo k 10. 9. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 7670 SARS CoV-2 pozitivních vzorků. Celkem 309 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 10. srpnem a 10. zářím.

Podíl původní varianty delta klesá na 56 %, naopak přetrvává rostoucí trend subvariant, především AY.4 (**27,5 %**). Rovněž AY.12, AY.9, AY.5 jsou detekovány častěji a tento trend v podstatě kopíruje globální situaci. Ze subvariant stojí za pozornost také AY.9 a pravděpodobně i AY.9.x, jejichž celkový podíl stoupl na 5,5 % .

RNDr. Helena Jiřincová, MUDr. Jan Moskalyk,