



Podrobná zpráva ke dni 5. 11. 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:

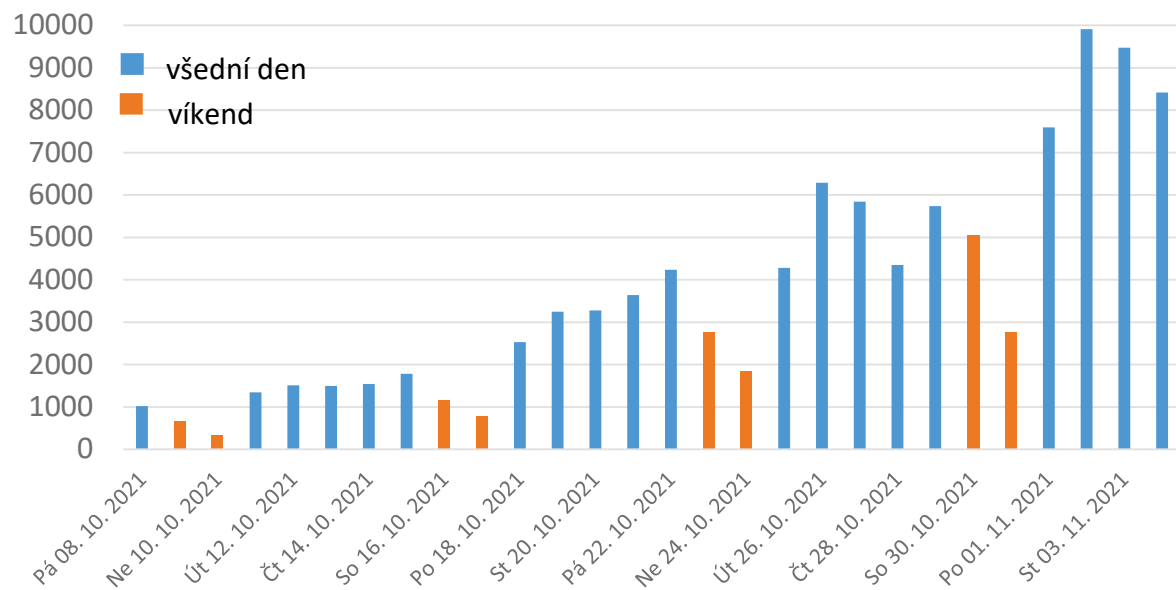
NRL pravidelně analyzuje data a poskytuje MZČR i laboratořím týdenní přehledový dokument, jehož cílem je monitorovat šíření variant SARS-CoV-2, které se na území ČR vyskytují, poskytovat informace o nových potenciálních i reálných rizicích v souvislosti s šířením a evolucí viru SARS-CoV-2, poskytovat 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:

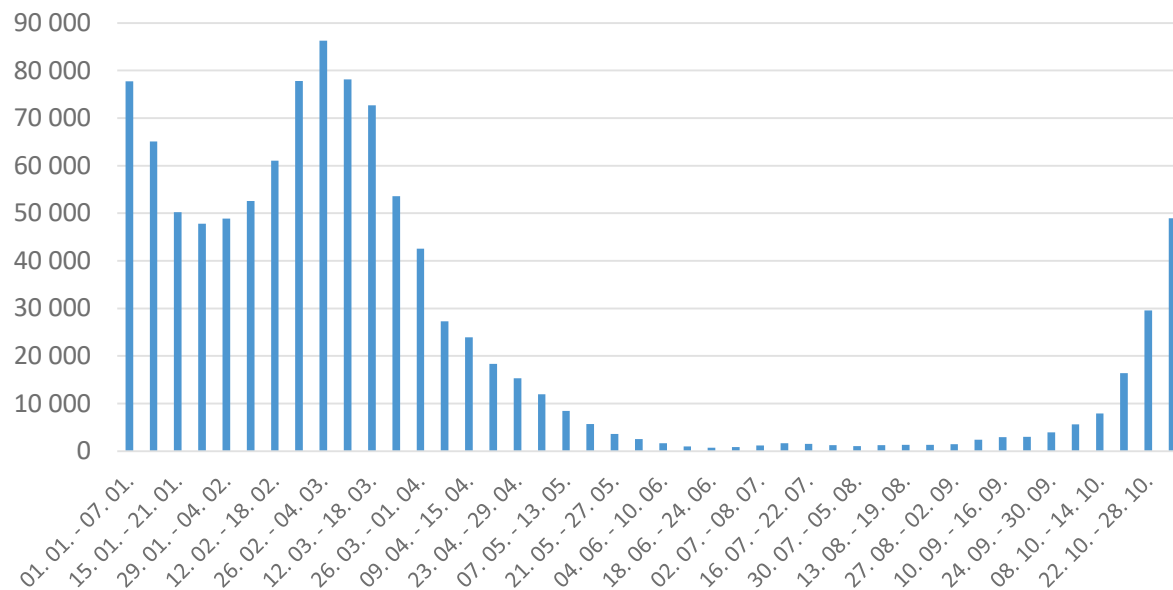
Souhrn a epidemiologický přehled	Strana 2 – 4
Vyhodnocení dat z diskriminační PCR	Strana 5
Odborná doporučení NRL a WHO	Strana 6 – 7
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace	Strana 8 – 15
Závěr	Strana 16

- V období od 22. 10. do 05. 11. 2021 má NRL k dispozici data z 51 726 provedených testů diskriminační PCR z celkem 84 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 97,1 % pozitivních případů (viz tab. 1).
- Za rok 2021 bylo k 5. 11. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 12 058 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. Celkem 889 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 5. říjnem a 5. listopadem.
- Přehled aktuální epidemiologické situace:
V ČR bylo za posledních 14 dní (tj. od 22. 10. do 4. 11. 2021) zachyceno 78 552 případů SARS-CoV-2 pozitivních osob, s denním průměrem 5 610,9 případů, což představuje 14denní incidenci 734,0 na 100 000 obyvatel. Vývoj počtu případů v delším časovém horizontu zobrazují grafy 1 a 2. Za uvedené období bylo nahlášeno 3 337 hospitalizací. Celkový počet hospitalizací ke konci sledovaného období činí 2 489 osob, z toho 335 osob s vážným průběhem. Nejvyšší 7denní incidence covid-19 je aktuálně hlášena v okresech Prostějov, Ostrava-město a Šumperk, podrobně uvádí situaci graf 3.

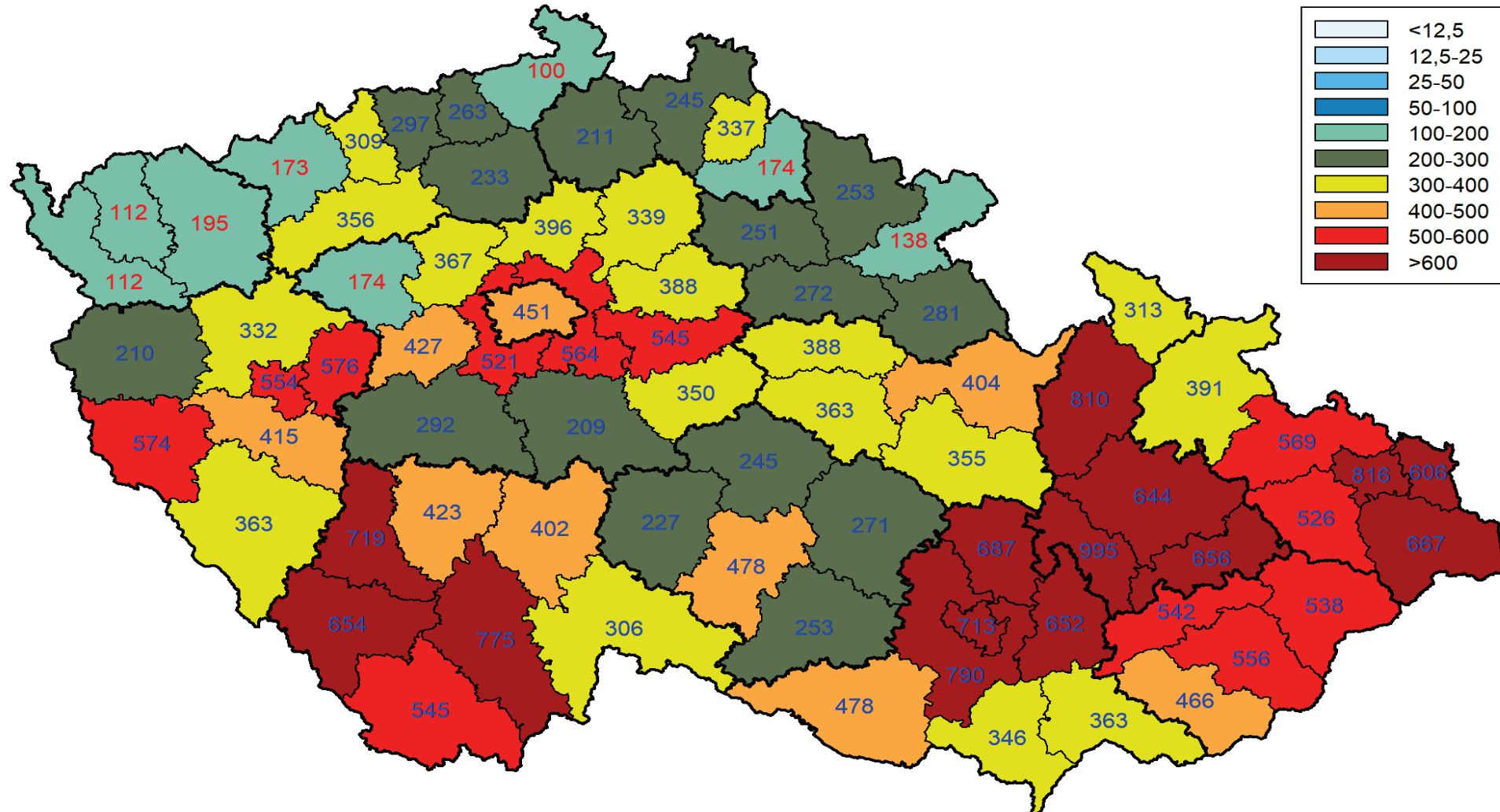
Graf 1: Počty případů covid-19 za posledních 28 dní



Graf 2: Týdenní počty případů covid-19 od 1. 1. 2021 do 4. 11. 2021



Graf 3: 7denní incidence na 100 000 obyvatel covid-19 dle okresů ke dni 4. 11. 2021



V období od 22. 10. do 05. 11. 2021 má NRL k dispozici data z 51 726 provedených testů diskriminační PCR z celkem 84 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 97,1 % pozitivních případů (viz tab. 1).

Tabulka 1: **Přehled zachycených mutací**

Mutace	Celkem	Z toho pozitivních	Podíl ze sady	Interpretace (pouze suspektní varianta)
L452R+	49 379	47 946	97,1 %	delta, delta+
E484K+	35 253	41	0,1 %	beta, gama, alfa E484K+, delta+
L452R+, E484K+	35 009	28	0,08 %	delta+
N501Y+, L452R+	7 211	4	0,02 %	delta+
A570D+	10 988	70	0,06 %	alfa, delta + A570D

Diskriminační PCR:

Odborná doporučení NRL pro diskriminační PCR SARS-CoV-2 pozitivních vzorků je zmírněna na:

- 1. Minimum – vždy povinné L452R**
- 2. Je možné vyšetřovat L452K v multiplexní PCR společně s „diagnostickou PCR“, pokud je daná souprava v tomto smyslu certifikována a pokud limit detekce je $LOD \leq 10$ kopií RNA/ 5 – 10 μ l (tedy na reakci)**
- 3. Na sekvenaci posílejte vždy L452R negativní vzorky**
4. V případě, že je denní záchyt pozitivit nad 5 000 musí poskytovatel takto zaslat nebo vyšetřit nejméně 30 % pozitivních vzorků. V případě, že se denní záchyt pohybuje nad 10 000, nejméně 10 % vzorků.
- 5. E484K je možné vyšetřovat pouze u L452R negativních vzorků a to jedenkrát za týden**
- 6. Rozšířené spektrum mutací doporučených ke sledování se nemění. Např:**
 - Možnost : E484K a L452R a N501Y
 - Možnost : E484K a L452R a N501Y a K417N
 - Možnost : E484K, L452R, N501Y, K417N a P681R

WHO doporučení: <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:

V poli „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	Bioptická laboratoř
KNL	Krajská nemocnice Liberec
FNP	Fakultní nemocnice Plzeň
FNHK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
FNO	Fakultní nemocnice Ostrava
CSQ	Fakultní nemocnice Brno

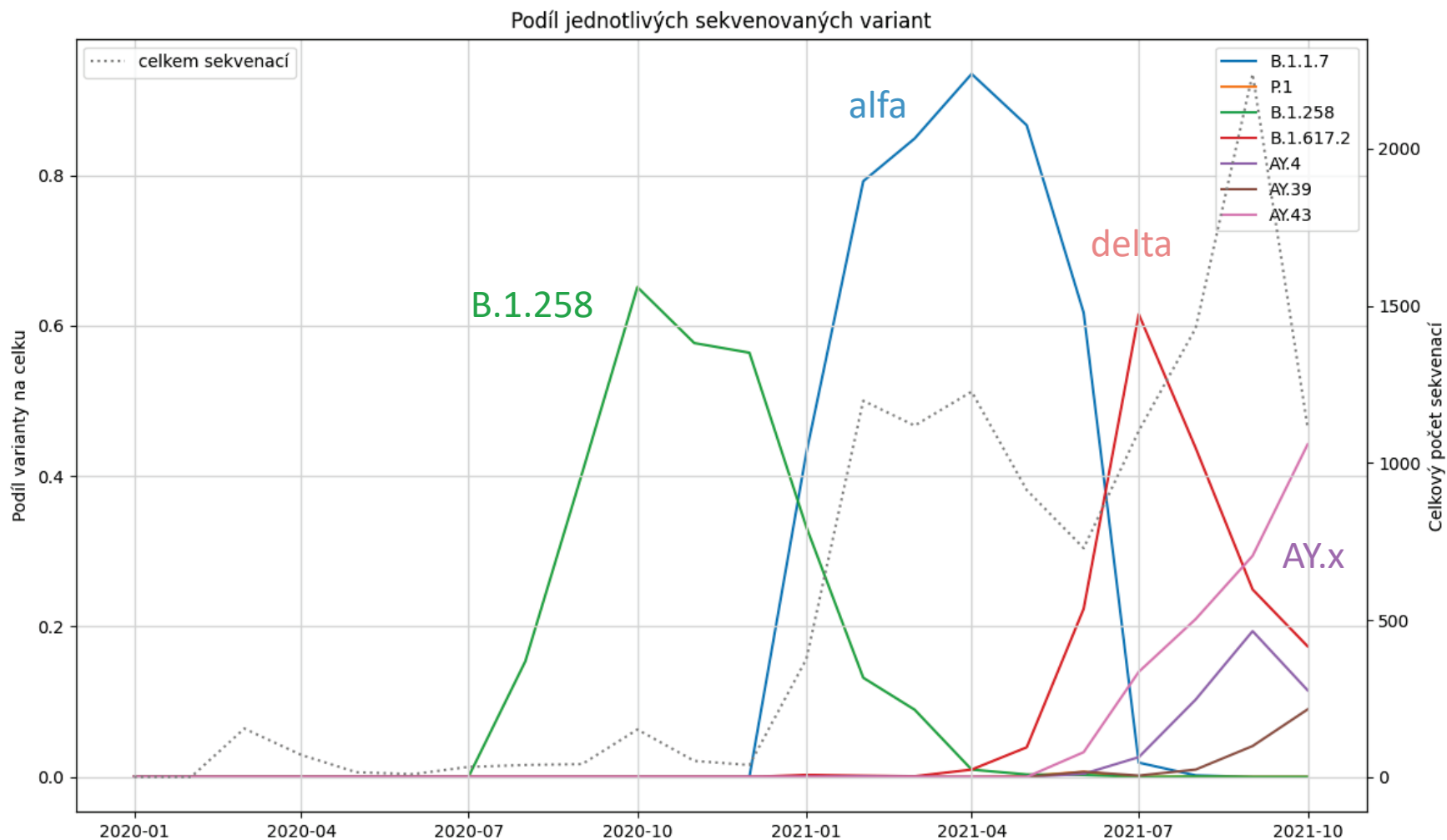
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace (WGS):

Za rok 2021 bylo k 5. 11. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 12 058 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. Celkem 889 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 5. říjnem a 5. listopadem. Podíl původní varianty delta období 5. 10. – 5. 11. je 16,2 %. Dle celogenomové sekvenace zaznamenáváme nárůst subvariant delta varianty - AY.43, AY.4, AY.39, které se šíří i v dalších zemích. **Podíl subvarianty AY.43 v tomto období činí 46,57 %**, podíl AY.4 činí 9,9 %, podíl AY.39 je 9,45 %. Podíl dalších subvariant AY.x činí méně než pět procent každá. Celkový přehled všech sekvenovaných variant v tomto období ukazuje tabulka 2. Vývoj podílu jednotlivých sekvenovaných variant zobrazuje graf 4. AY.x varianty se liší jen málo v aminokyselinové sekvenci S proteinu, AY.9 a AY.26 nese navíc mutaci ve spike A222V. Změny jsou komplexní, zasahují i do dalších genů, včetně těch nestrukturálních a často představují tiché mutace (mutace pouze na nukleotidové úrovni, ne však na aminokyselinové úrovni).

Pozn.: data ze sekvenací jsou k dispozici za cca 1-3 týdny od data odběru.

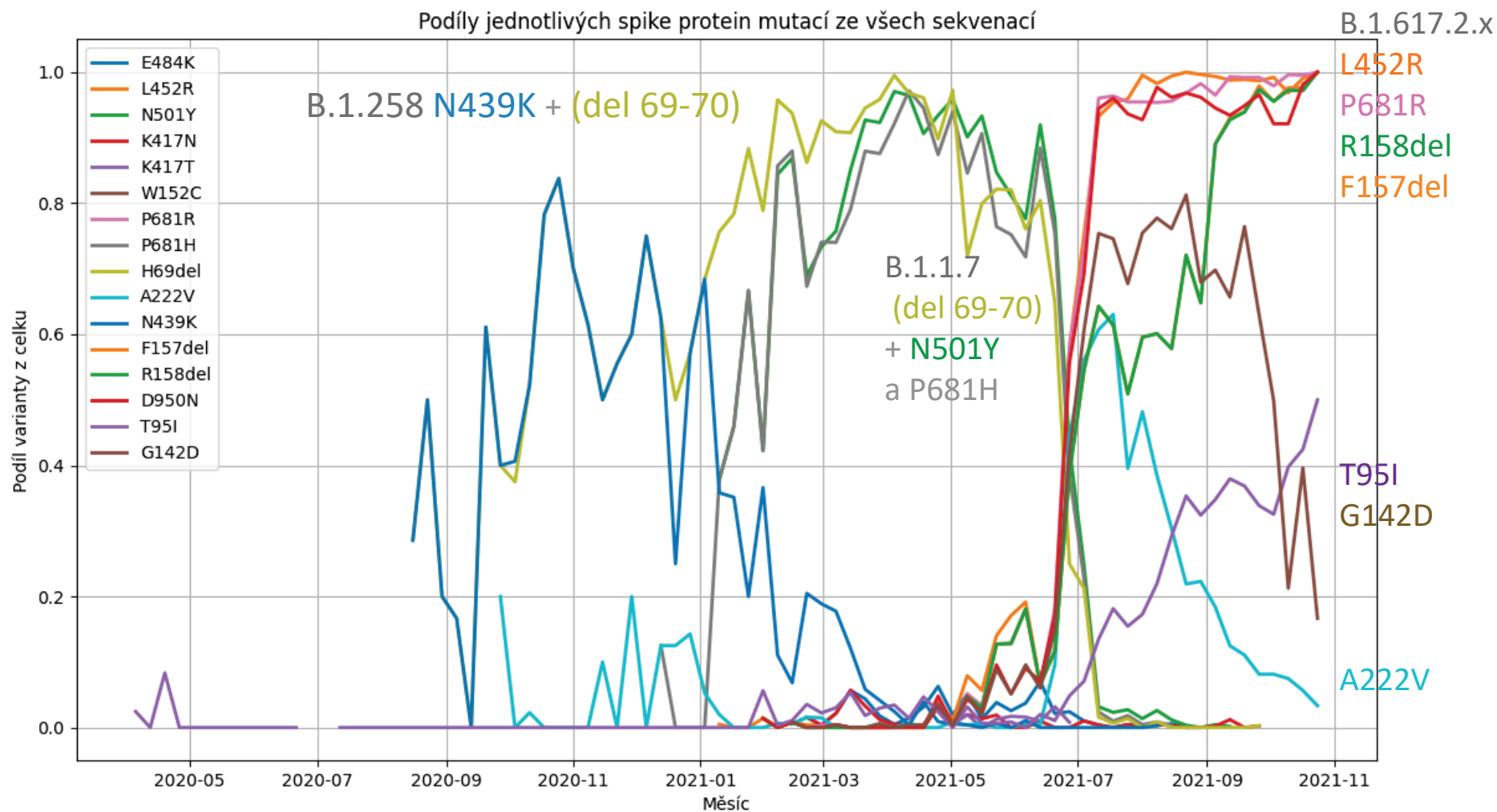
- V současné době je v ČR dominantní varianta a AY.43, jejíž podíl roste, viz graf 4. V předchozích zprávách nebyla tato varianta uváděna, a to proto, že recentně došlo k reklasifikaci pangolineages v mezinárodní databázi GISAID.org.

Graf 4: Přehled významných sekvenovaných variant v ČR jako podíl z celku



Graf č. 5:

Frekvence G142D a T95I možná souvisí s vyhodnocením sekvenačních dat. Viz další slide.



NRL sleduje frekvence mutací T95I a D142G. Ve vědecké komunitě zazněly hypotézy, že vyšší frekvence souvisí s kompeticí v rámci evoluce viru. Pre-print vědeckého článku uveřejněného na medrxiv.org naznačuje, že se může jednat o technický artefakt způsobený špatným nasedáním primeru v rámci sekvenace. V souvislosti s mutací D142G dochází k výpadkům amplifikace při přípravě sekvenační knihovny kitem CleanPlex® Amplicon Sequencing (Paragon).

<https://www.paragongenomics.com/>

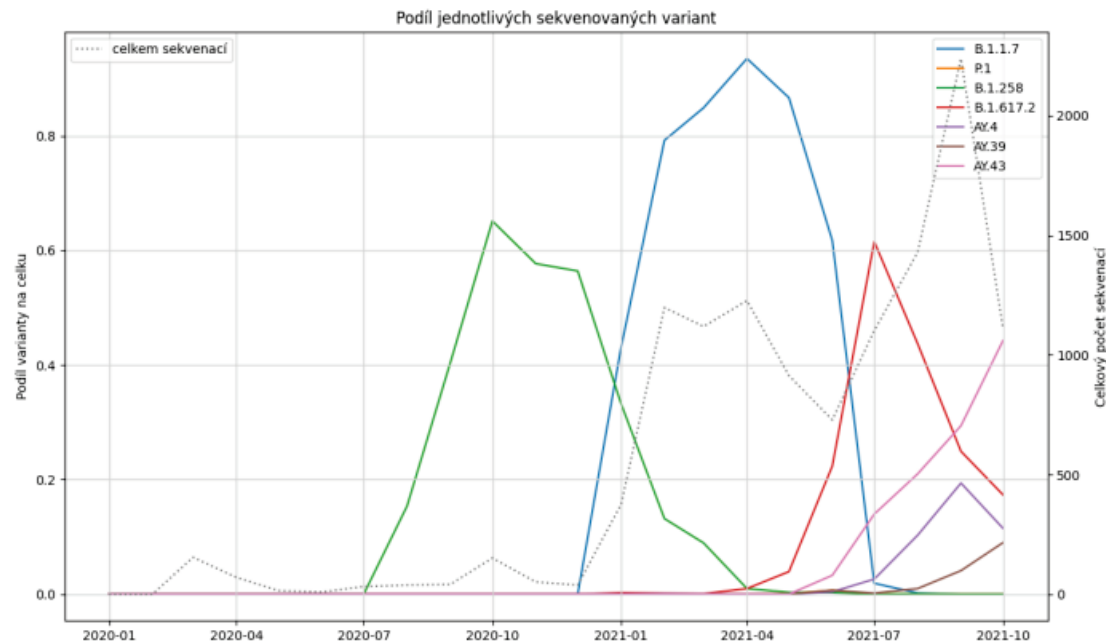
Více zde:

[Variation at Spike position 142 in SARS-CoV-2 Delta genomes is a technical artifact caused by dropout of a sequencing amplicon | medRxiv](#)

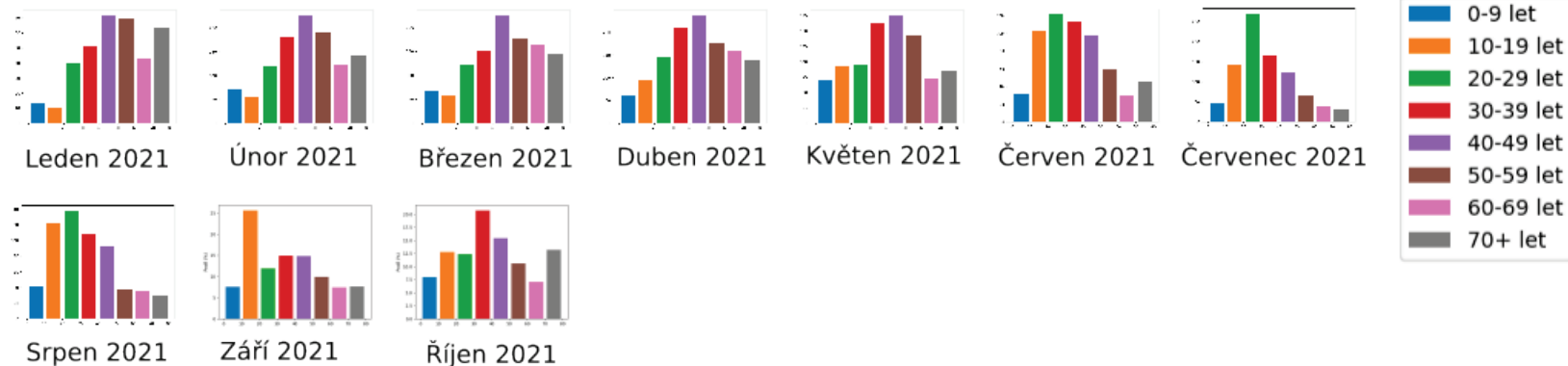
Věková struktura sekvenovaných v kontextu převažujících variant

Graf. č. 6: Věková struktura ve vztahu k osekvenovaným vzorkům

V měsících lednu až květnu dominantní věková skupina 40 – 49 let byla od června nahrazena dominující skupinou 20 – 29 let, přičemž od srpna 2021 pozorujeme nárůst i mladších věkových skupin, především 10 – 19 let. V říjnu jsou ve věkových skupinách sekvenovaných opět více zastoupeny skupiny 30 – 39 a 40 – 49 let.



Věková struktura sekvenovaných



Tabulka 2:

Varianta	celkem	podíl (%)	Dle WHO
AY.43	414	46,57	Delta+
B.1.617.2	144	16,2	Delta
AY.4	88	9,9	Delta+
AY.39	84	9,45	Delta+
AY.20	39	4,39	Delta+
AY.9	24	2,7	Delta+
AY.4.4	21	2,36	Delta+
AY.46.6	13	1,46	Delta+
AY.47	11	1,24	Delta+
AY.36	8	0,9	Delta+
AY.44	8	0,9	Delta+
AY.46	8	0,9	Delta+
AY.5	5	0,56	Delta+
AY.42	5	0,56	Delta+
AY.33	4	0,45	Delta+
AY.7.1	3	0,34	Delta+
AY.4.5	2	0,22	Delta+
AY.4.2	2	0,22	Delta+
AY.1	1	0,11	Delta+
AY.25	1	0,11	Delta+
AY.7.2	1	0,11	Delta+
AY.34	1	0,11	Delta+
Celkem	889	100	

Dne 22. 9. byl aktualizován dokument WHO, který se zabývá monitoringem potenciálně nebezpečných variant. Aktuálně situace vypadá takto:

Varianty hodné obav (VOC)

Varianta	Pangolinie
delta	B.1.617.2
beta	B.1.351
gama	P.1

Varianty hodné zájmu (VOI)

Varianta	Pangolinie
lambda	C.37
mu	B.1.621

Podrobnější informace naleznete na stránkách WHO: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> a <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>.

Dle ECDC jsou nyní některé varianty takzvaně deeskalovány, tedy jsou vyřazeny z VOI/VOC klasifikace, jedná se o varianty alfa, epsilon, kapa, eta, theta, zeta a další.

- V období od 22. 10. do 05. 11. 2021 má NRL k dispozici data z 51 726 provedených testů diskriminační PCR z celkem 84 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 97,1 % pozitivních případů (viz tab. 1).
- 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 hraje důležitou roli v monitoringu variant viru, a je stále důležité i část PCR identifikovaných variant 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 mutace L452R. Další mutace zatím nejsou stabilně přítomny.
- Za rok 2021 bylo k 5. 11. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 12 058 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. Celkem 889 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 5. říjnem a 5. listopadem. Podíl původní varianty delta období 5. 10. – 5. 11. je 16,2 %. Dle celogenomové sekvenace zaznamenáváme nárůst subvariant delta varianty - AY.43, AY.4, AY.39, které se šíří i v dalších zemích. **Podíl subvarianty AY.43 v tomto období činí 46,57 %**, podíl AY.4 činí 9,9 %, podíl AY.39 je 9,42 %. Podíl dalších subvariant AY.x činí méně než pět procent každá. Celkový přehled všech sekvenovaných variant v tomto období ukazuje tabulka 2. Vývoj podílu jednotlivých sekvenovaných variant zobrazuje graf 4. AY.x varianty se liší jen málo v aminokyselinové sekvenci S proteinu, AY.9 a AY.26 nese navíc mutaci ve spike A222V. Změny jsou komplexní, zasahují i do dalších genů, včetně těch nestrukturálních a často představují tiché mutace (mutace pouze na nukleotidové úrovni, ne však na aminokyselinové úrovni).
- Pozorujeme nárůst varianty AY.43, kde dochází k divergentní evoluci a vzniku nových subvariant. AY.43 se v tuto chvíli stává dominantní variantou nejen v ČR, ale i v Evropě.

Kolektiv autorů:

RNDr. Helena Jiřincová, MUDr. Jan Moskalyk, RNDr. Alena Fialová, Ph.D., MUDr. Monika Liptáková, MUDr. Martina Leppová