



WP2- CORINFES

Timotej Šuri MSc., Ing. David Vostřák
RNDr. Helena Jiřincová

Prezentovaný výzkum byl realizován týmem pracovníků Státního Zdravotního Ústavu díky projektu:

Genomická surveillance vybraných infekčních nemocí v České republice



Co-funded by the
European Union

Projekt „Genomická surveillance vybraných infekčních nemocí v České republice“ (HERA2CZ) je spolufinancován Evropskou unií. Prezentované názory a postoje však představují pouze názory autorů a nemusí nutně odrážet názory a postoje Evropské unie nebo Evropské výkonné agentury pro zdraví a digitální oblast (HaDEA). Ani Evropská unie, ani Evropská výkonná agentura pro zdraví a digitální oblast (HaDEA) za ně nemohou nést odpovědnost.

WP2 – WGS respiračních virů - molekulární surveillance



I. WGS vybraných respiračních virů :A/H1N1 pdm A/H3N2, B/Victoria, B/Yamagata, RSV/A a RSV/B a MPXV

- viry chřipky A/B, SARS-CoV-2 a RSV jsou příčinou každoročních epidemií
- chřipka A, koronaviry – pandemický potenciál daný nejenom proměnlivostí genomu, ale způsobem šíření
- dostupná vakcína (RSV zatím omezeně) i specifická léčba.
- RNA viry – proměnlivost - úniku před vakcínou navozenými protilátkami, léčbou
- MPXV – považovaný za stabilní DNA virus – mění v krátké době v proměnlivý virus s možným pandemickým potenciálem

II. Zvýšení sekvenační kapacity

III. Naprogramování algoritmu pro výběr reprezentativního podílu vzorků s ohledem na definované epidemiologické parametry

IV. surveillance

- Integrace SARS-CoV-2 do ARI/ILI surveillance

V. surveillance - vytvoření webového aplikace

- sentinelové surveillance – včetně ověření vhodnosti samoodběru
- non-senitnel surveillance – zjednodušení hlášení pozitivních detekcí hlášení pozitivních detekcí respiračních virů

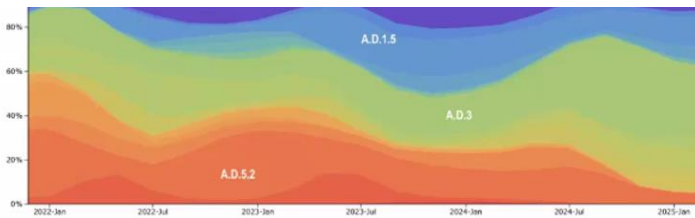
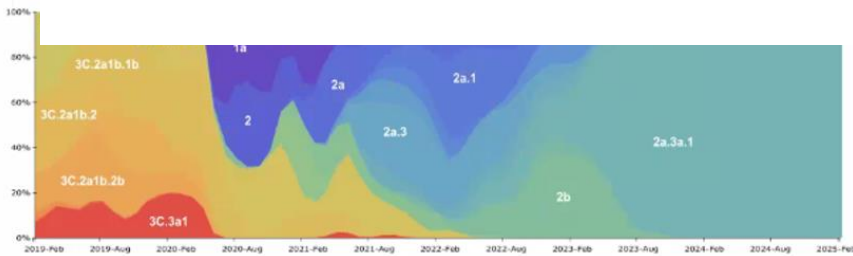
Srovnání evoluční „strategie“ InflA/SAR-CoV-2/RSV



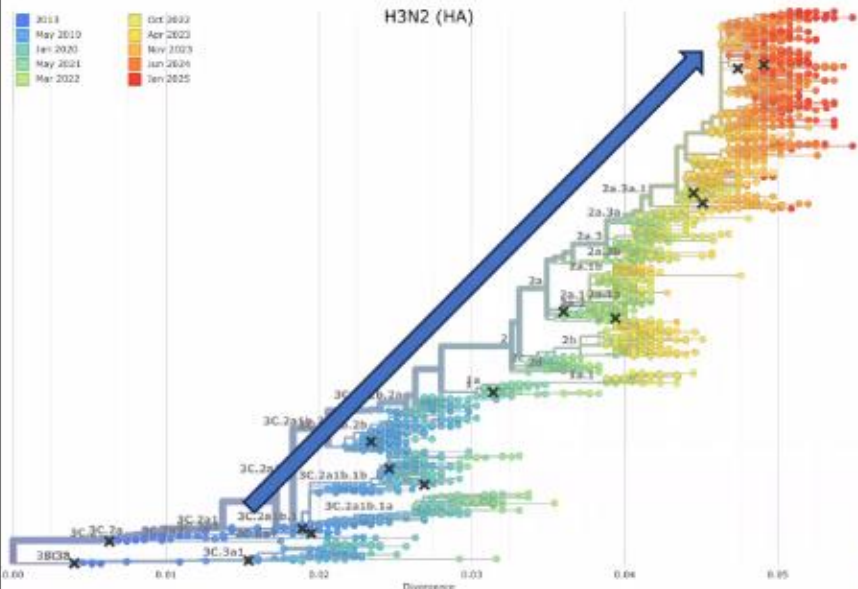
Infl A: postupný vývoj

SARS-CoV-2 – skokový vývoj prostřednictvím kryptických variant – nástup varianty vede k epidemické vlně

RSV – paralelní postupný vývoj

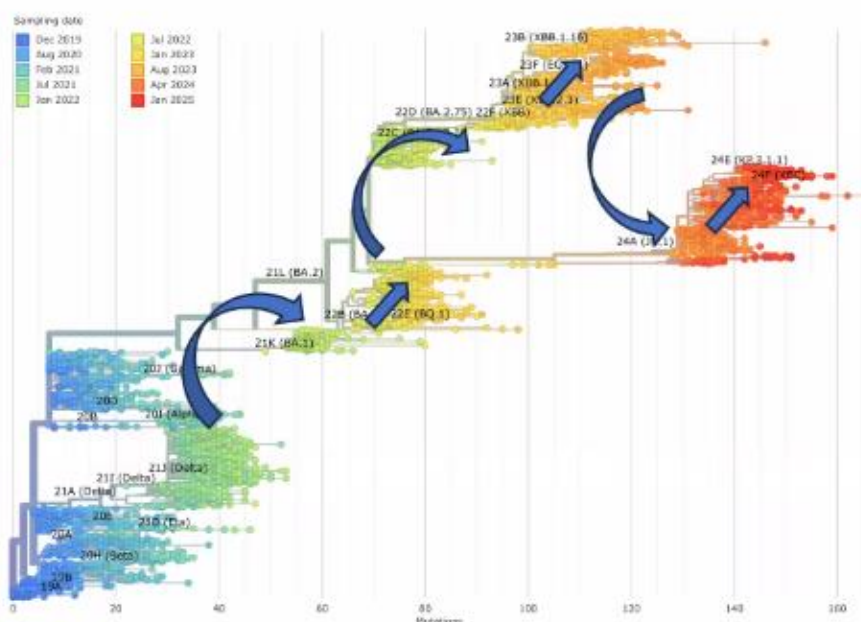


A(H3N2) HA



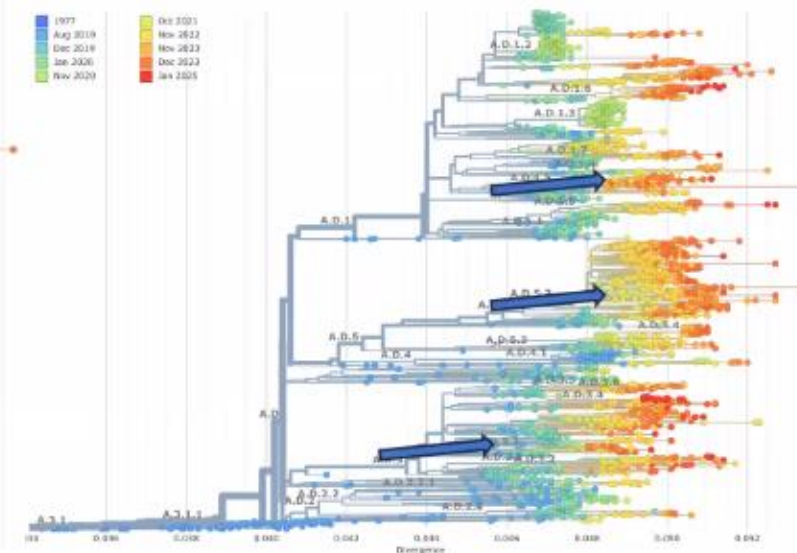
Annual seasonal epidemics

SARS-CoV-2



Epidemic waves

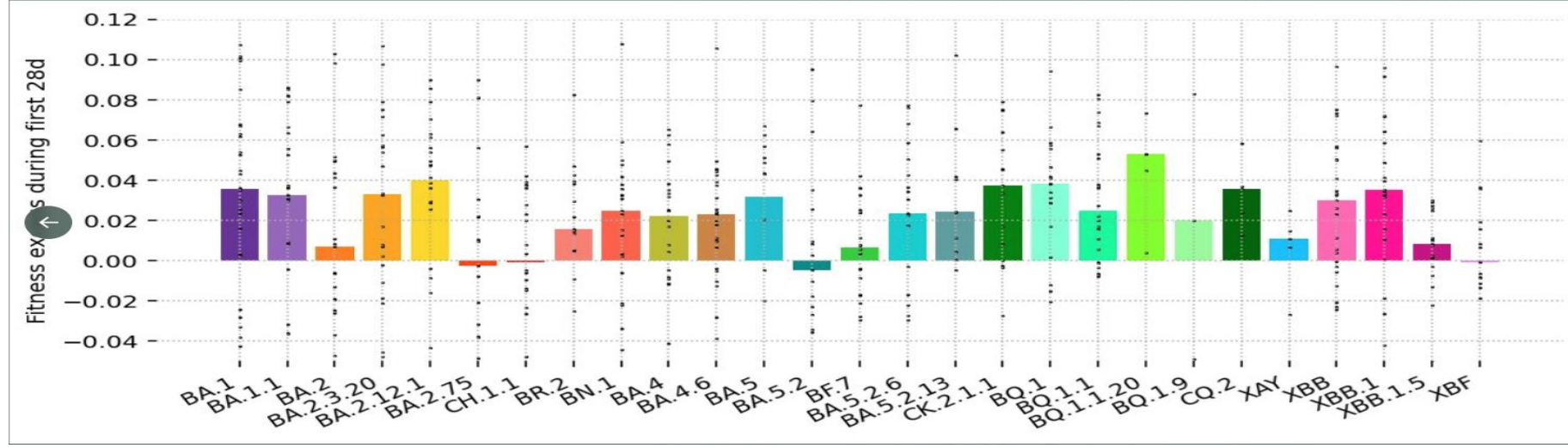
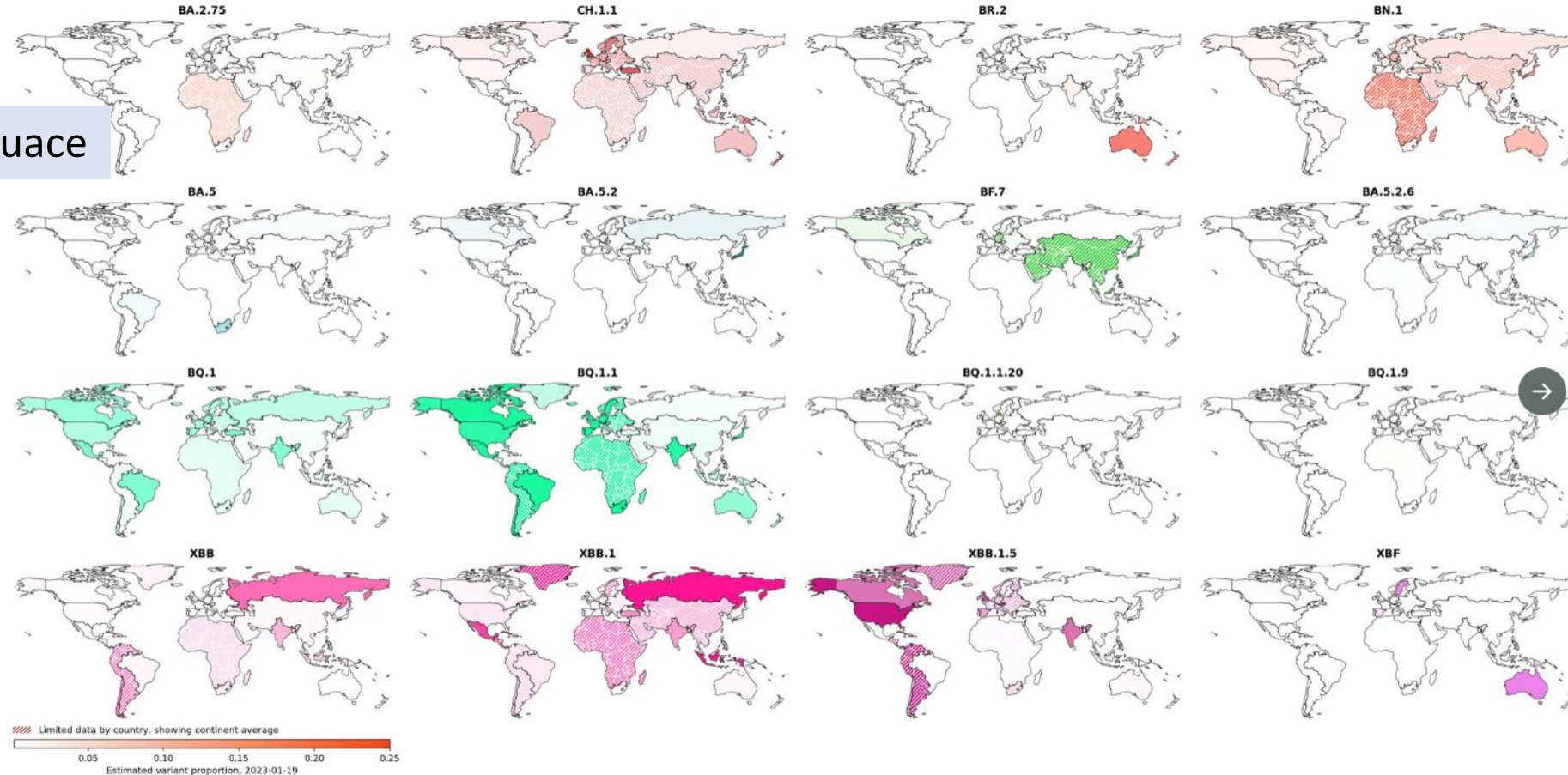
RSV



Annual seasonal epidemics

SARS-CoV-2 – globální situace

S postupujícím šířením XBB.1.5 se snižuje rychlost šíření této varianty. Tento trend kopíruje dříve pozorovaný útlum v šíření BQ.1 a BQ.1.1. Pro tento jev zatím neexistuje vysvětlení. Varianta XBF (Bythos) se šíří zatím především v Austrálii.



Výběr vakcinálního kmene: Charakterizace A/H1N1pdm 22/23

Egg-based Vaccines

- an A/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09-like virus;

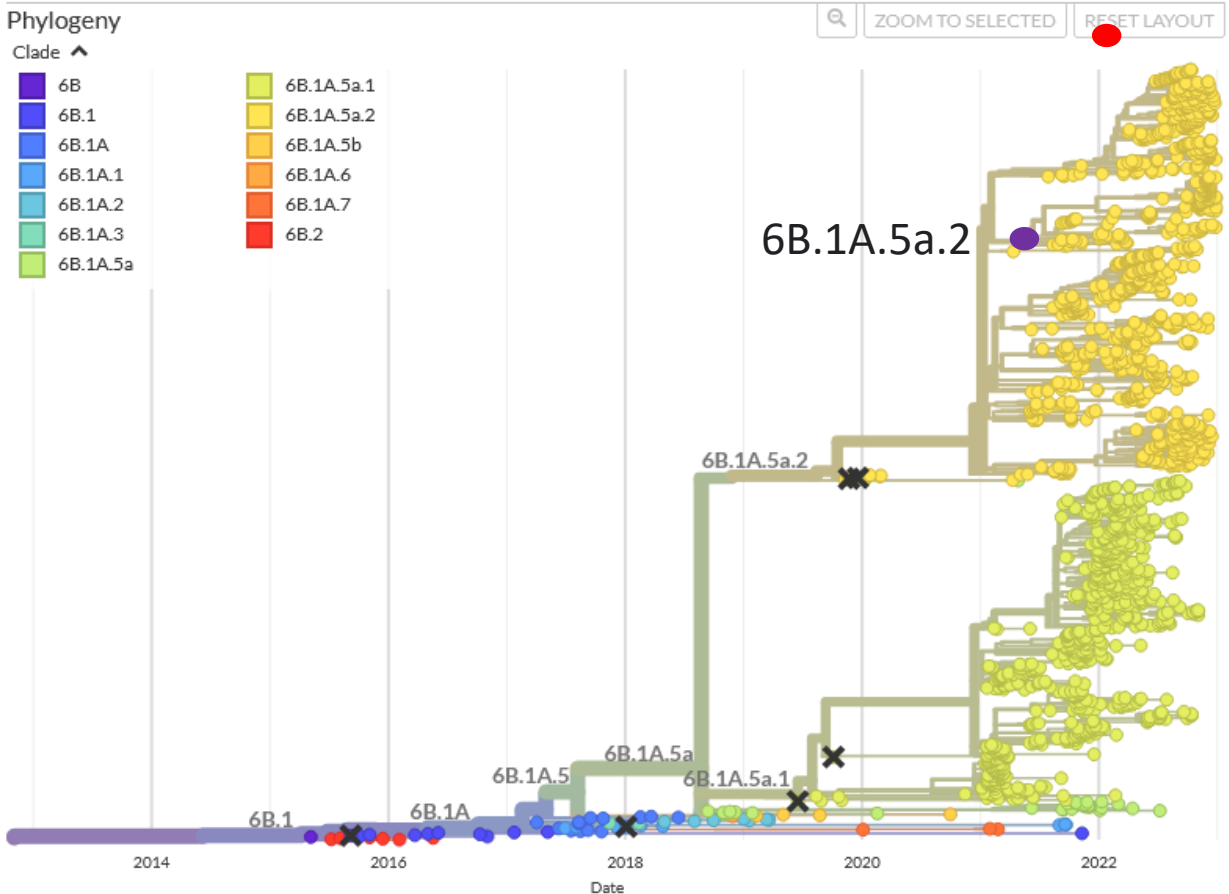
Cell culture- or recombinant-based Vaccines

- an A/Wisconsin/588/2019 (H1N1)pdm09-like virus;

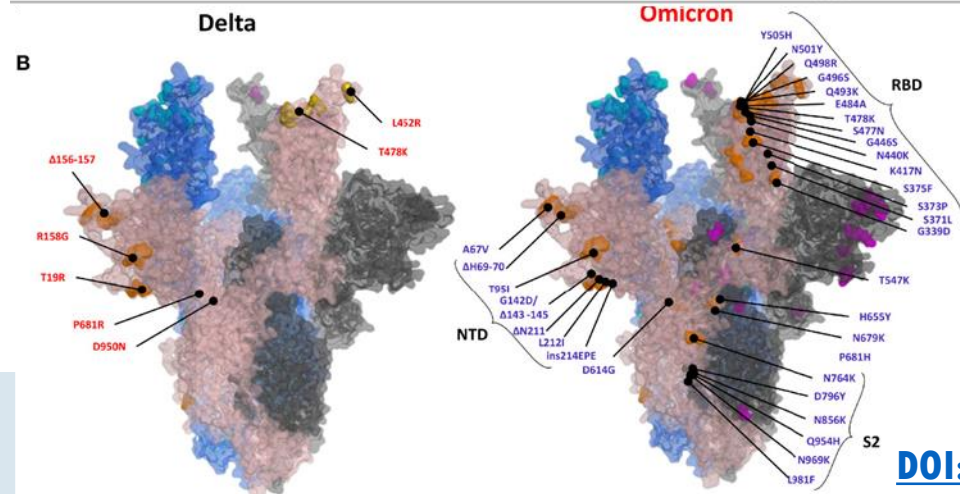
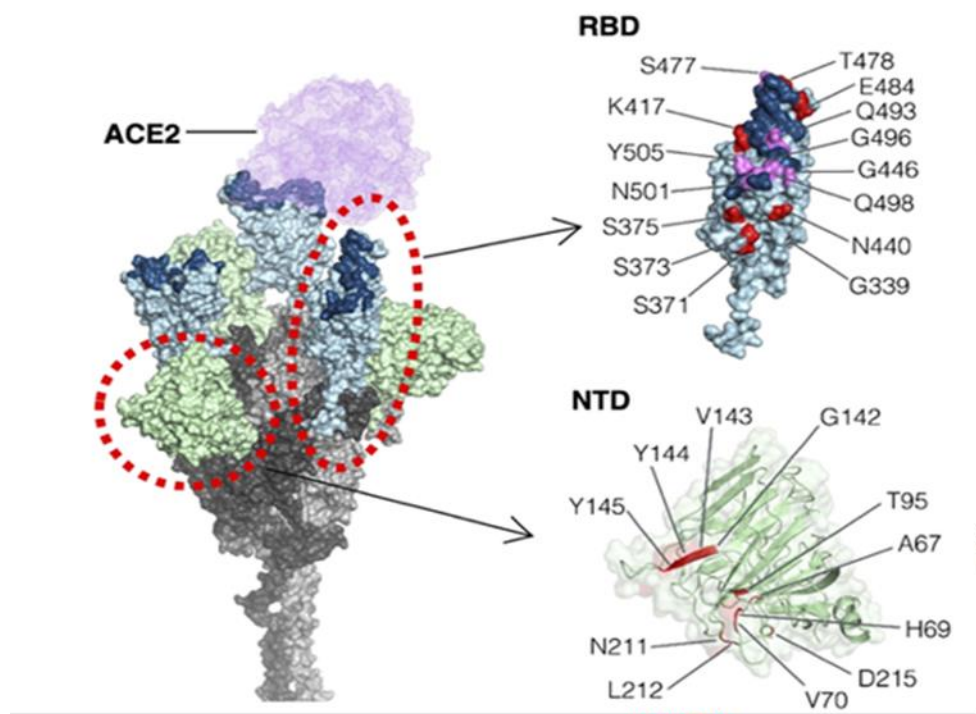
	A/G-M/ SWL1536/2019	A/Norway/ 25089/2022	A/Sydney/ 5/2021	A/Victoria/25 70/2019
AH1/Guangdong- Maonan/SWL1536/2019	1280	< 40	< 40	40
AH1/Norway/25089/2022	< 40	2560	2560	2560
AH1/Sydney/5/2021	80	1280	1280	1280
AH1/Victoria/2570/2019	< 80	1280	640	1280
Kmeny 2022-23	< 40	640 - 1280 - 2560 - 5120	640 - 1280 - 2560	640 - 1280 - 2560

Real-time tracking of influenza A/H1N1pdm evolution

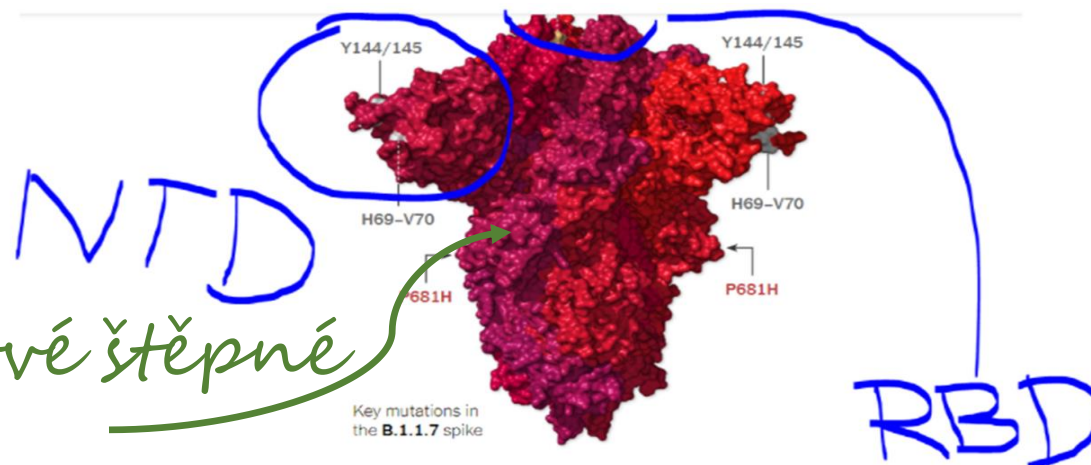
Built with [nextstrain/seasonal-flu](#). Maintained by [Jover Lee](#), [Richard Neher](#) and [Trevor Bedford](#). Enabled by data from [GISAID](#).
Showing 1706 of 1706 genomes sampled between May 2015 and Dec 2022.



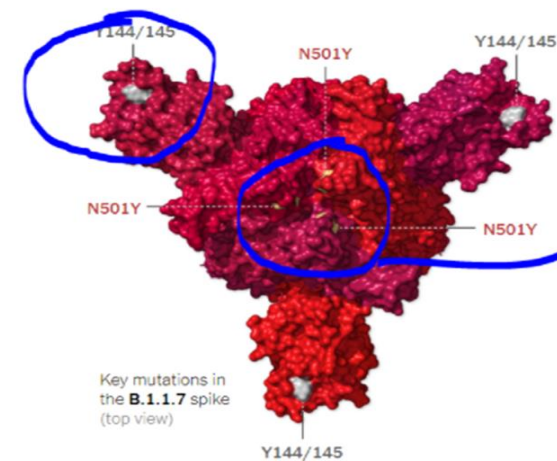
Spike struktura během evoluce



Furinové štěpné místo



It takes three spike proteins to form one spike, so each mutation appears in three places:

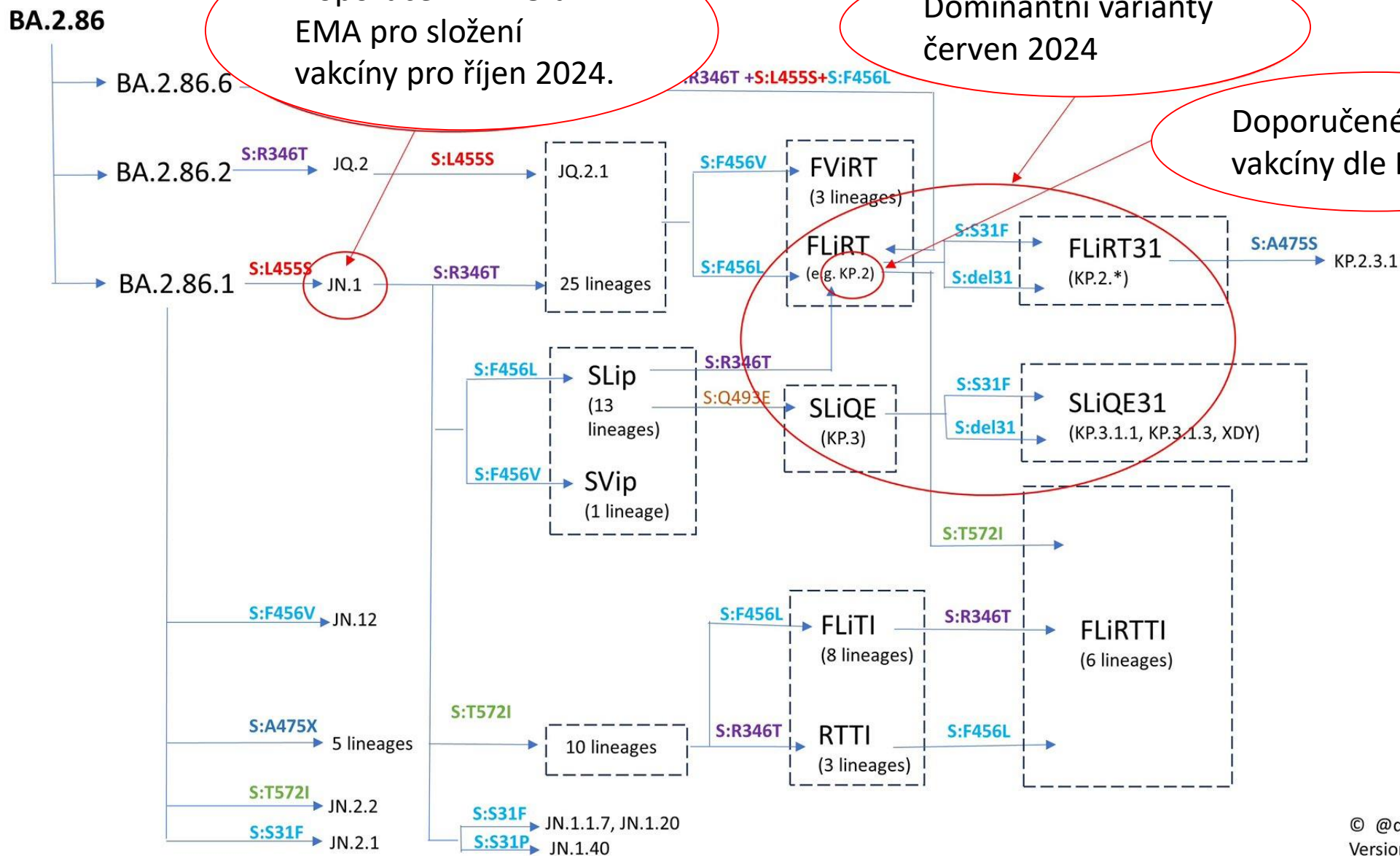


For more on the B.1.1.7 mutations, see: [Inside the B.1.1.7](#)

NYT 2021

Doporučení WHO a EMA pro složení vakcíny pro říjen 2024.

Doporučené složení vakcíny dle FDA



AREXVY / RSVpreF (Abrysvo)

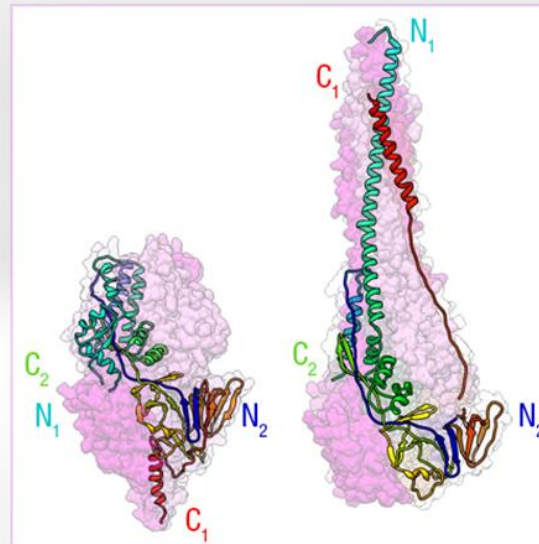
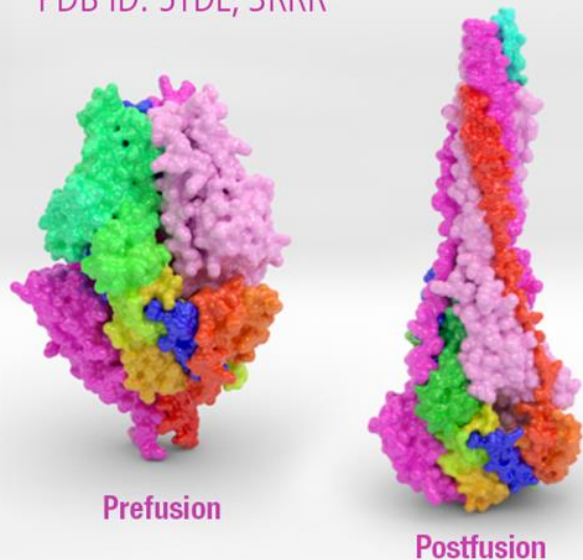
>60 let, nehrazená/ těhotné

Rekombinantní glykoprotein F respiračního syncytiálního viru stabilizovaný v prefuzní konformaci = RSVPreF3

2 RSVPreF3 je produkován ovariálními buňkami křečika čínského (CHO) technologií rekombinantní DNA. 3 adjuvovaný na AS01E obsahující: rostlinný extrakt z Mydlokoru tupolistého (*Quillaja saponaria* Molina), frakce 21 (QS-21) 25 mikrogramů 3-O-deacyl-4'-monofosforyl lipid A (MPL) z bakterie *Salmonella minnesota* 25 mikrogramů

RSV Fusion Glycoprotein Conformations

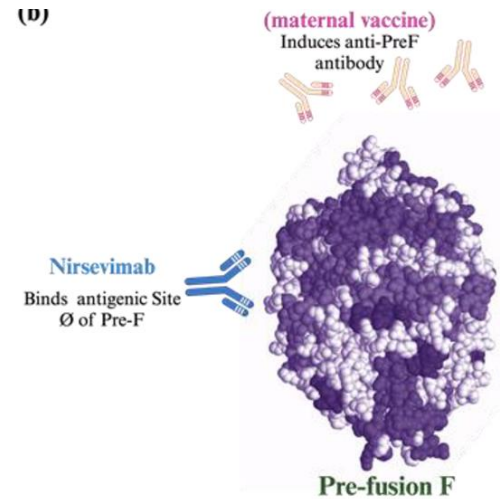
PDB ID: 5TDL, 3RRR



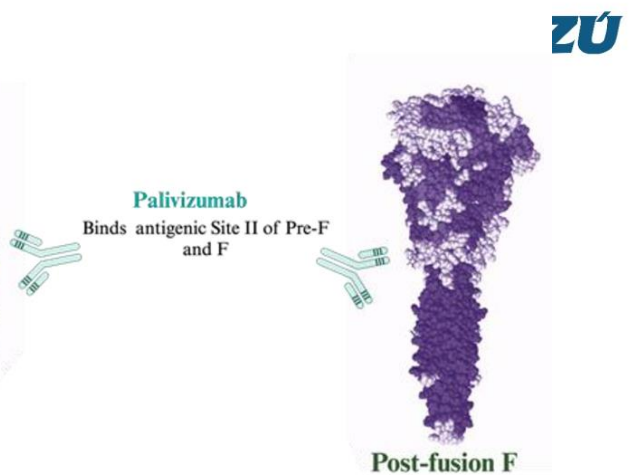
BIOLOGIC MODELS

MAB Nirsevimab

(v)

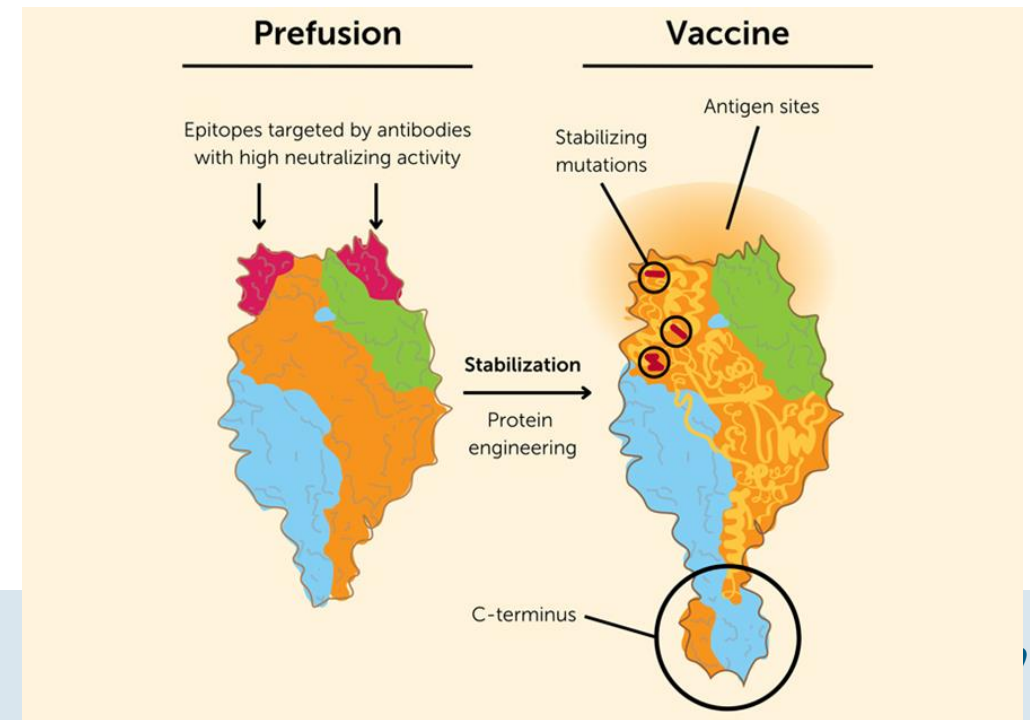


Palivizumab



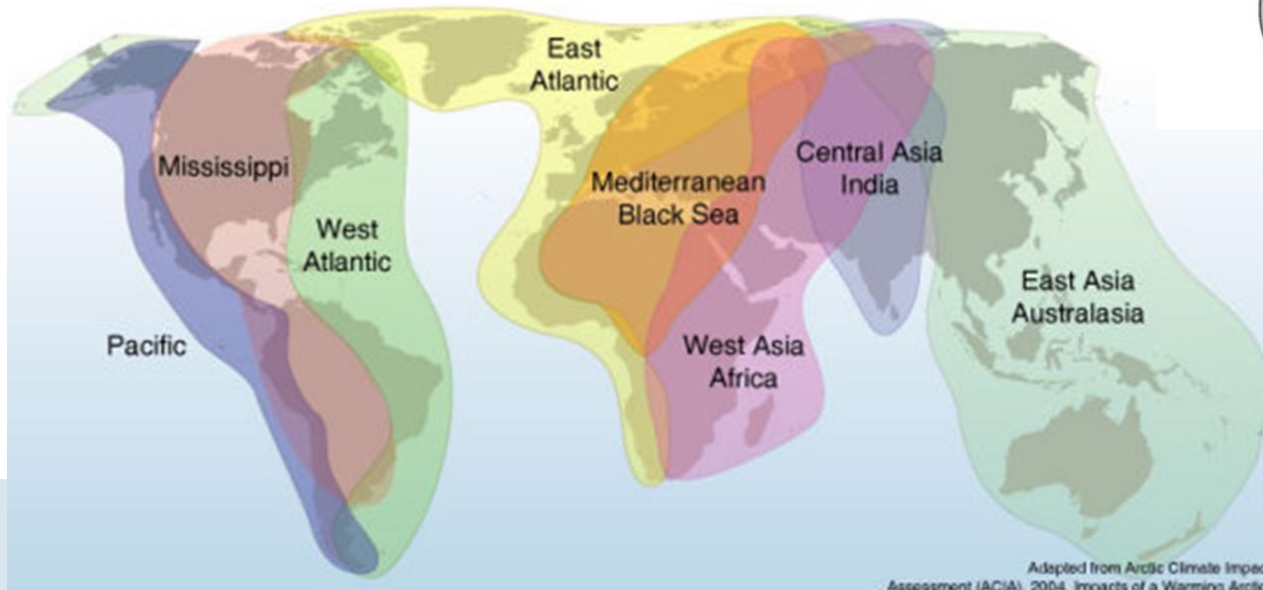
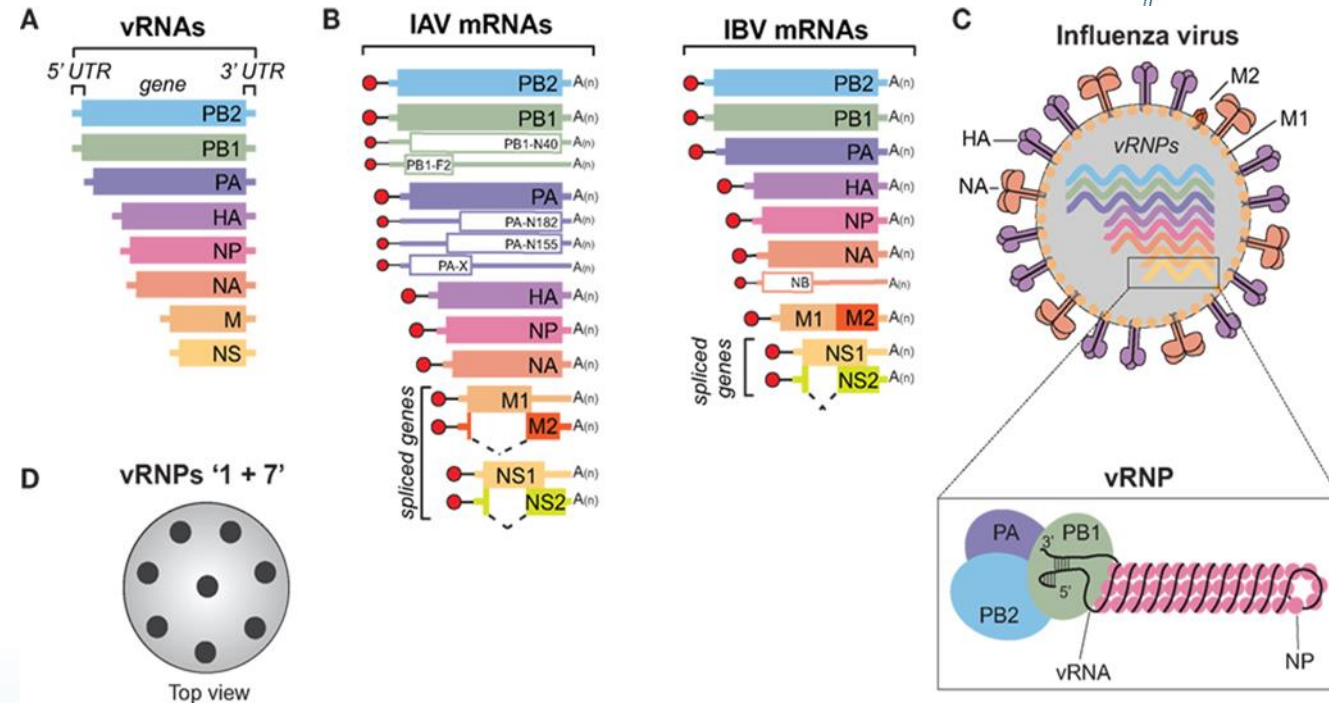
ZU

<https://doi.org/10.3390/pathogens14020104>



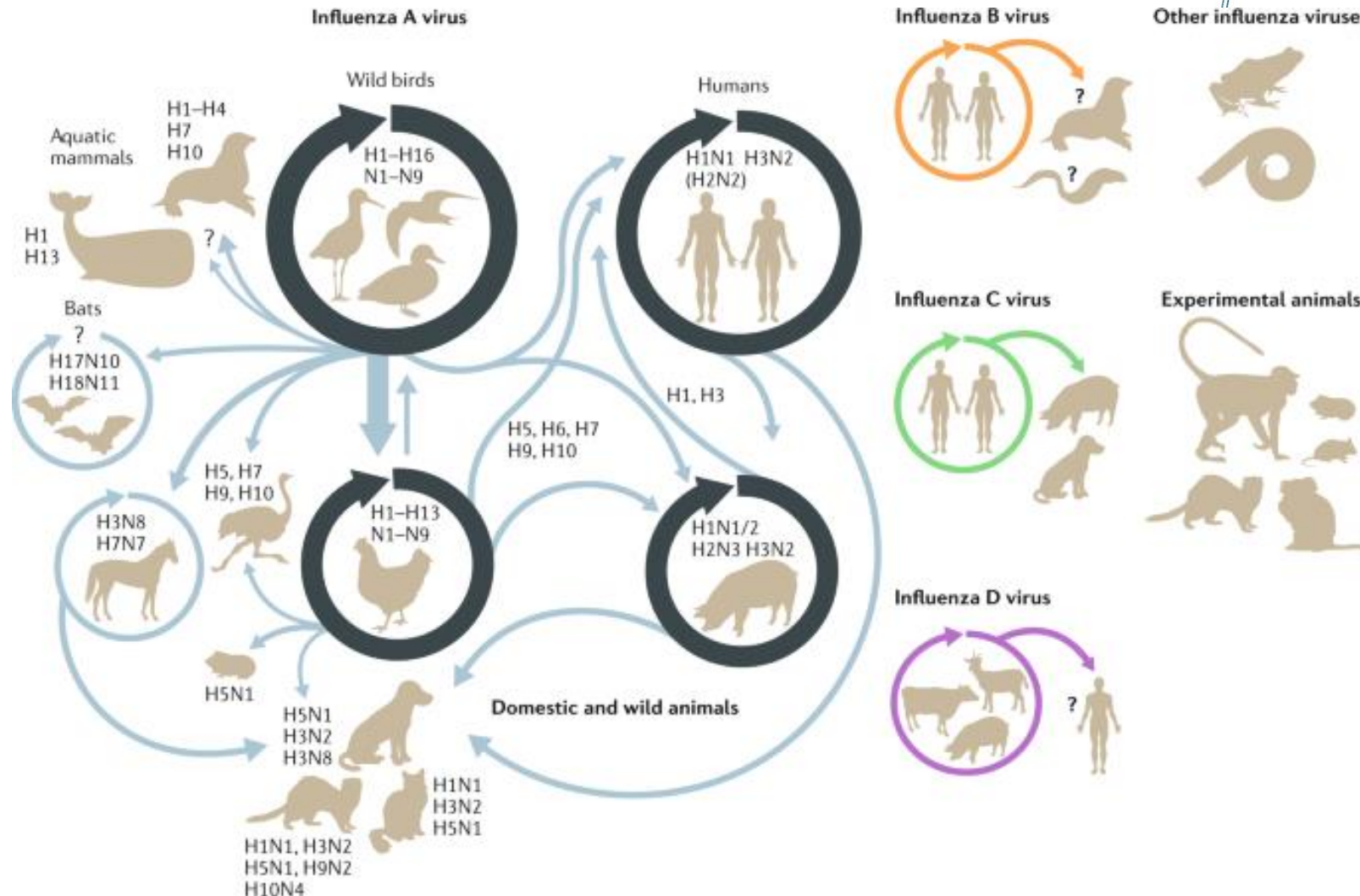
Virus chřipky typu A – pandemický potenciál

- Segmentovaný virus – reassortment
- Zoonotický rezervoár
- Globální rozšíření

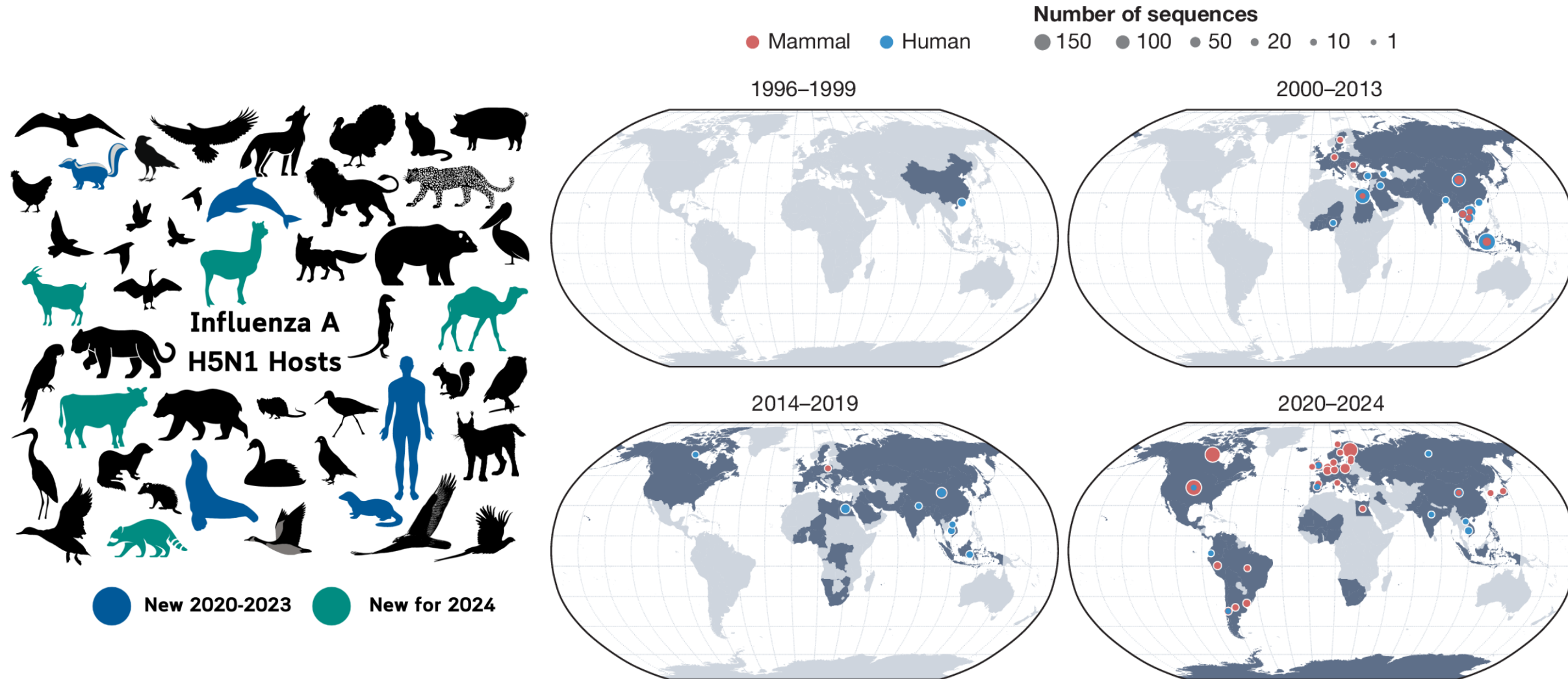


Infl A - Subtyp ptačí chřipky se známým přenosem na člověka

A Subtypes	HPAI vs LPAI
Avian (Can infect humans) H5N1 H7N3 H7N7 H7N9 H9N2 H10N8 Swine (Can infect humans) H1N1 H1N2 H3N2 Most common human H1N1 H3N2	HPAI H5N1 LPAI H5N1 HPAI H5N8 LPAI H5N8 Subtypes can be classified as high path or low path based on the ability of the specific virus strain to kill chickens in the lab setting.

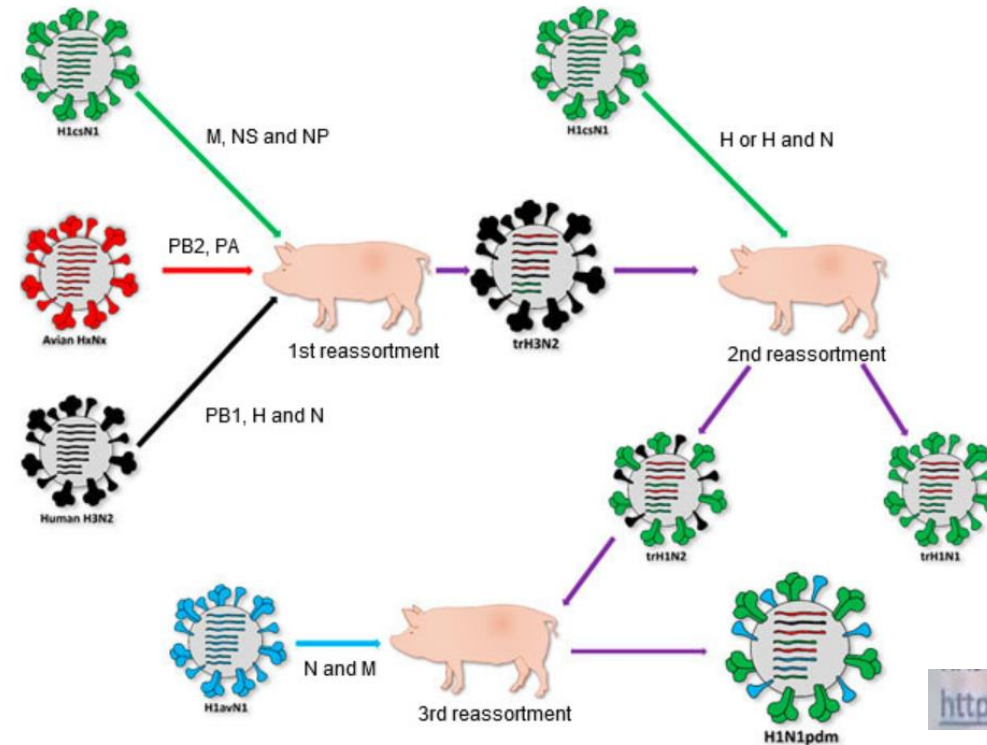
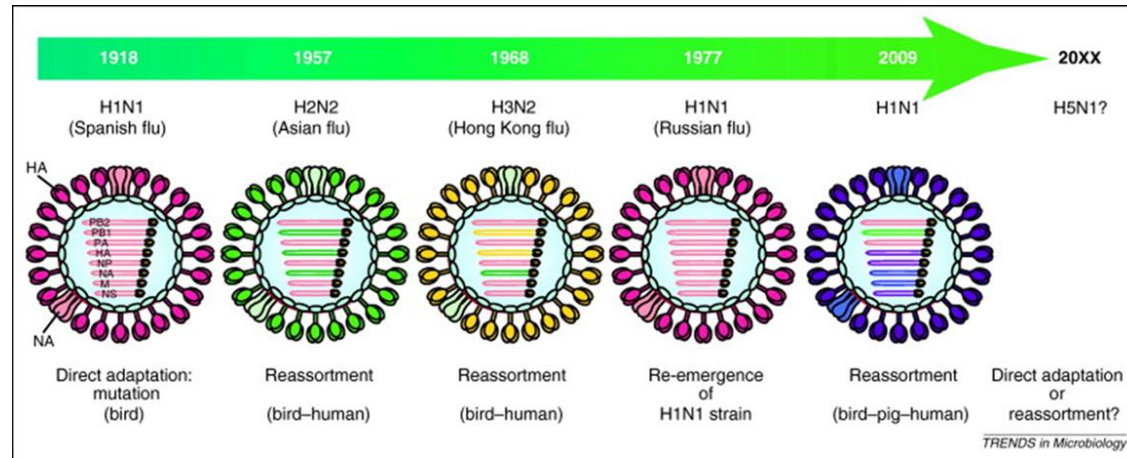


H5N1 – geografická distribuce a hostitelské spektrum

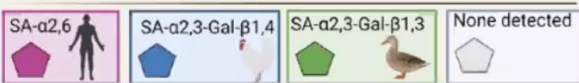


Peacock, T.P., Moncla, L., Dudas, G. *et al.* The global H5N1 influenza panzootic in mammals. *Nature* **637**, 304–313 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08054-z>

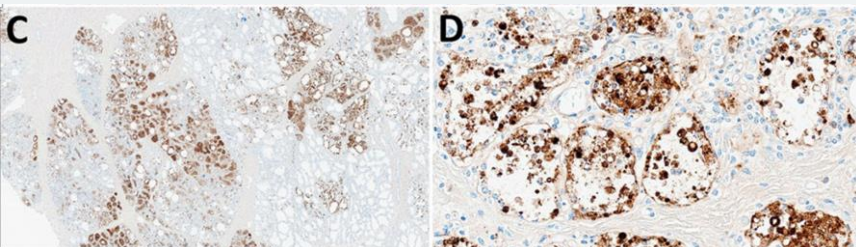
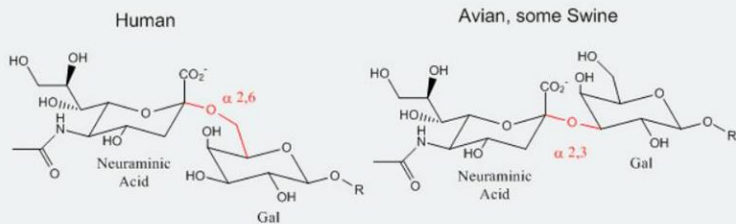
Kráva jako mixážní nádoba?



<https://doi.org/10.1101/2024.05.03.592326>



Binding Site for Influenza Hemagglutinin Protein



C) distribuci viru ptačí chřipky. D) silnou jadernou a intracytoplazmatickou imunoreaktivitu intaktních a odloupených epiteliálních buněk v alveolech mléčné žlázy. doi: [13](#)

MPXV - prostředí – hostitel - APOBEC3

Pandemický potenciál?



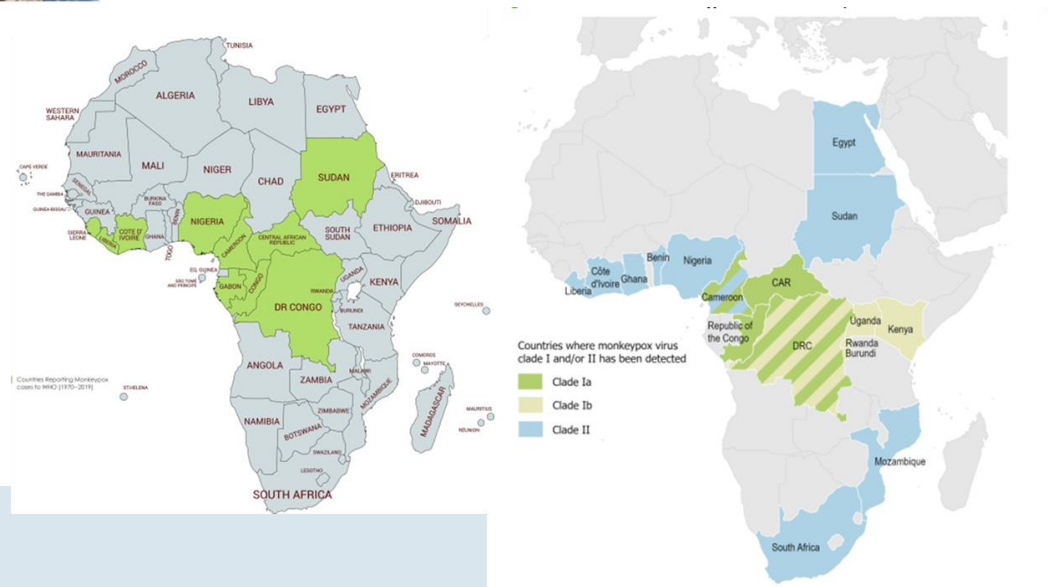
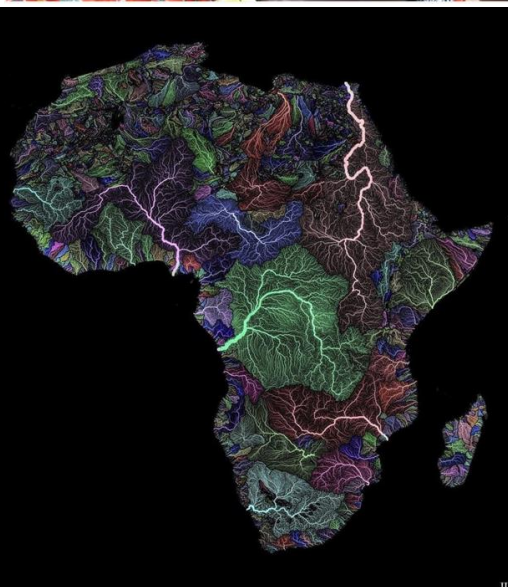
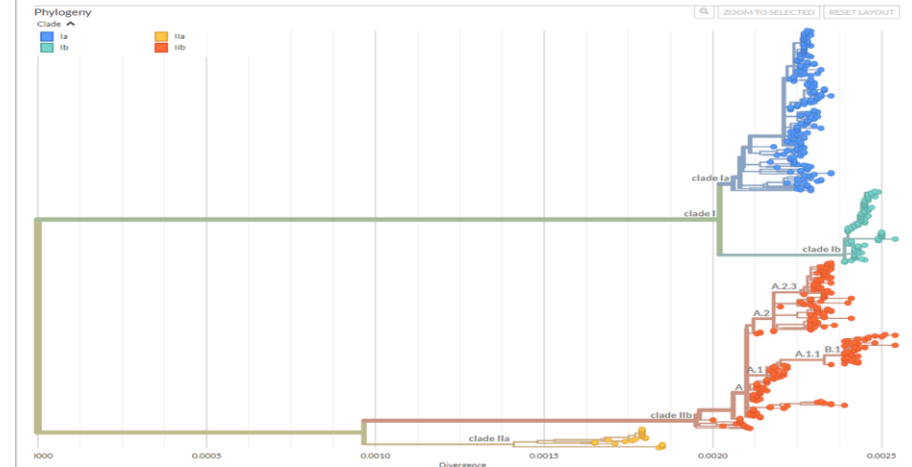
Příčiny plasticity genomu
Poxviridae

APOBEC3 C $\Rightarrow$ T (A)

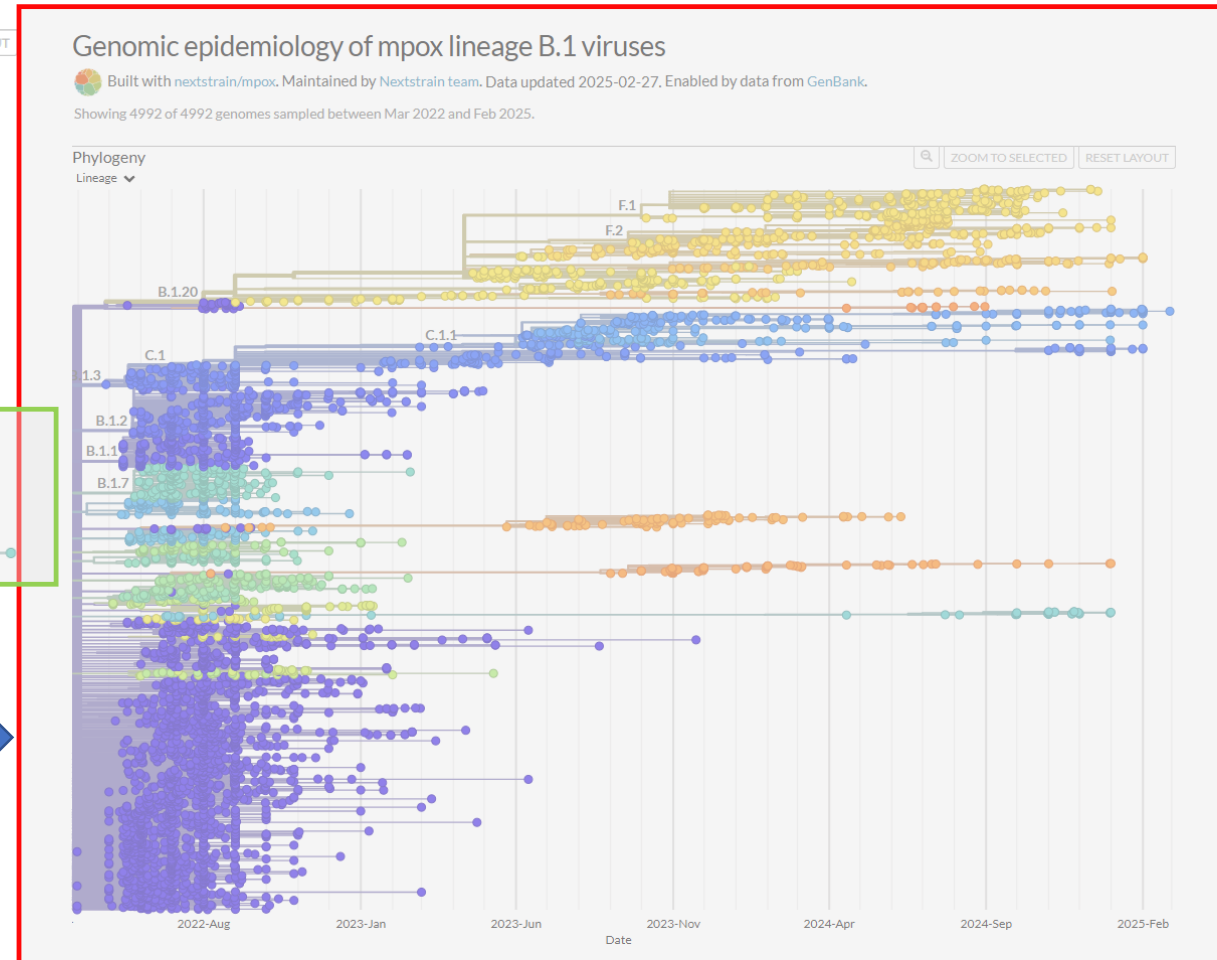
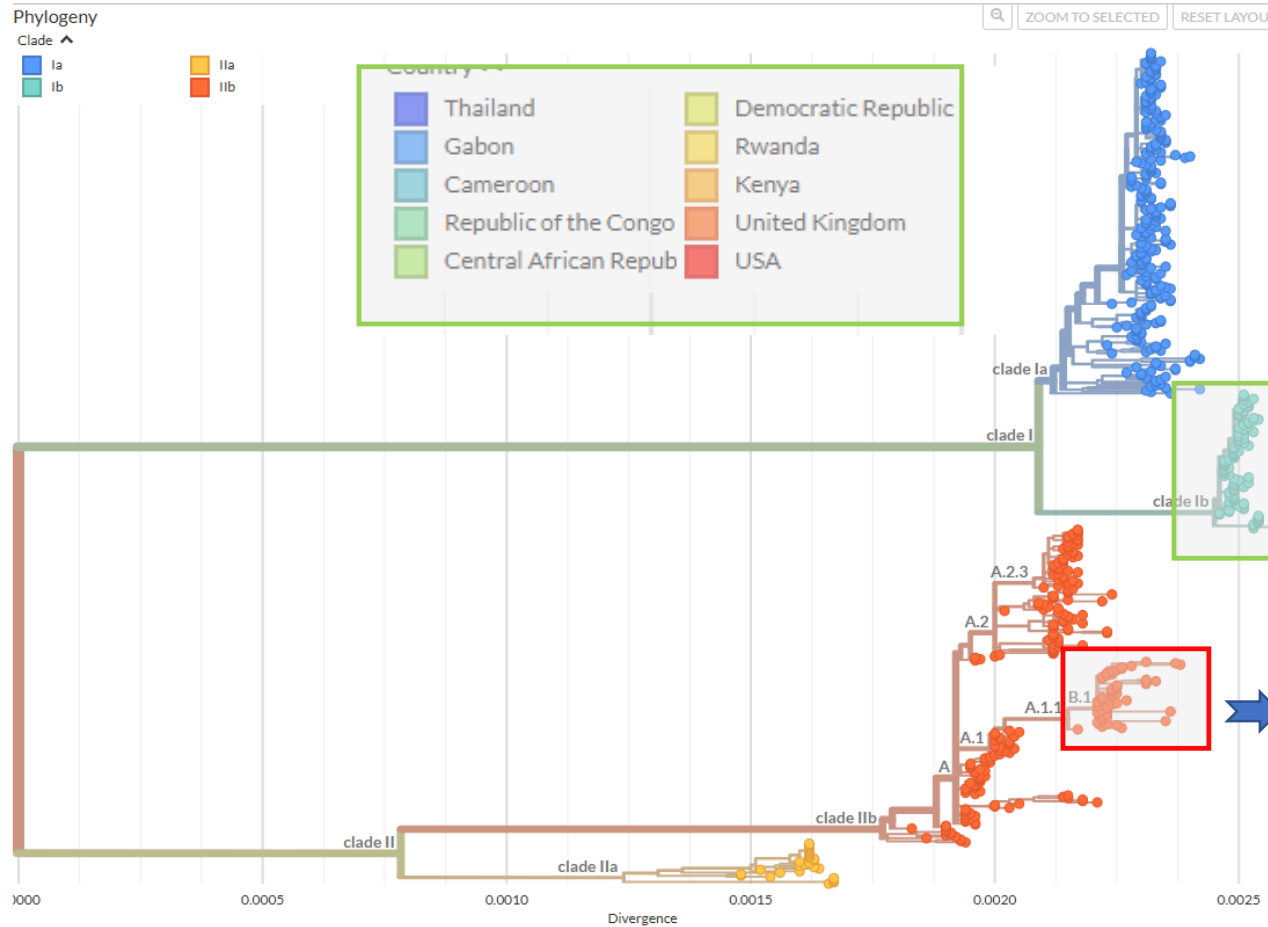
- cytidin deamináza innátní obrana
(retroviry, HIV, herpetické viry)

Genomic epidemiology of mpox viruses across clades

Built with nextstrain/mpox. Maintained by Nextstrain team. Data updated 2024-11-02. Enabled by data from GenBank.
Showing 543 of 543 genomes.



Evolve MPXV 2018 - 2025



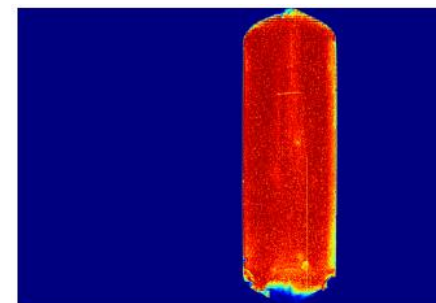
Zvýšení in house sekvenační kapacity



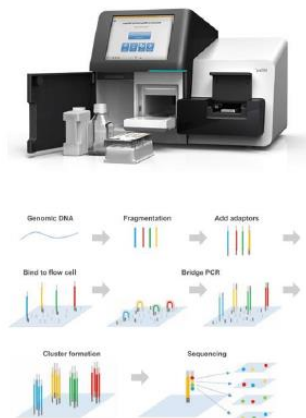
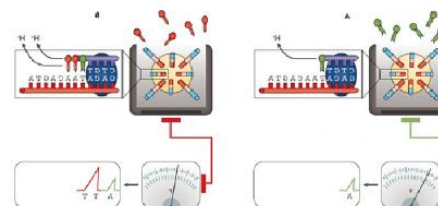
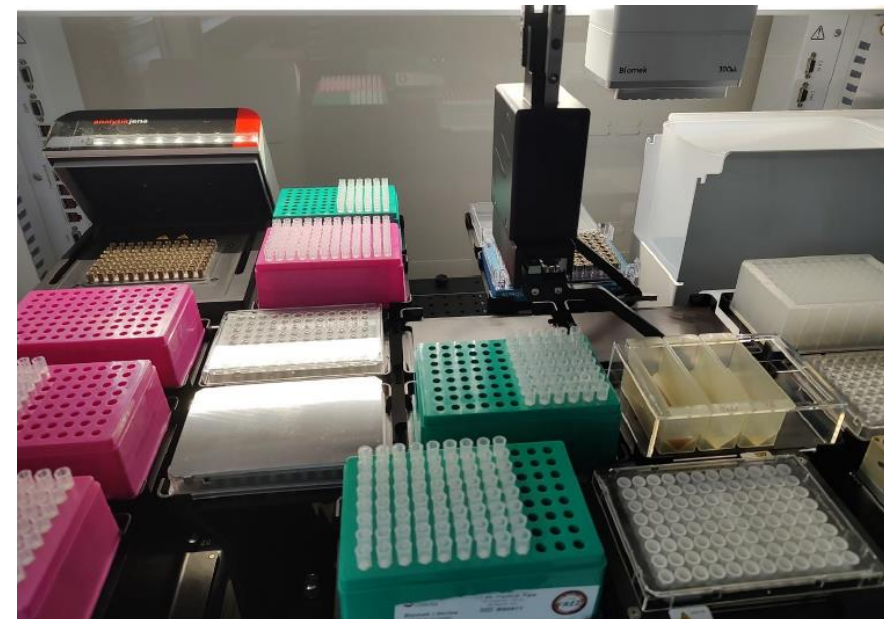
Zvýšení míry automatizace automatického pipetoru Biomek i5

- podavač špiček (Biomek i5 tip feeder)

- ECDC – Illumina NovaSeq 6000
- NRL - Illumina MiSeq
- NRL - ThermoFisher Ion Torrent Genexus
- SVU – Oxford Nanopore MinION

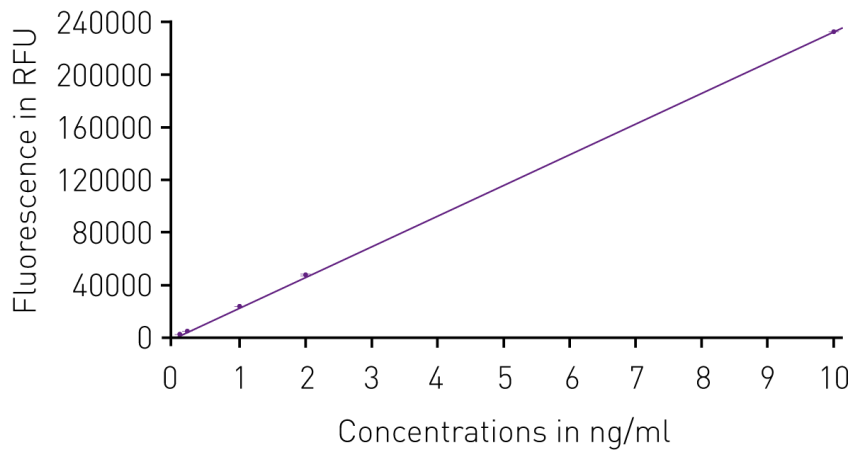


Loading Density



Zvýšení sekvenační kapacity

Paralelní měření koncentrace DNA ve stripu



RNA High-Sensitivity:

RNA Broad-Range:

dsDNA High-sensitivity

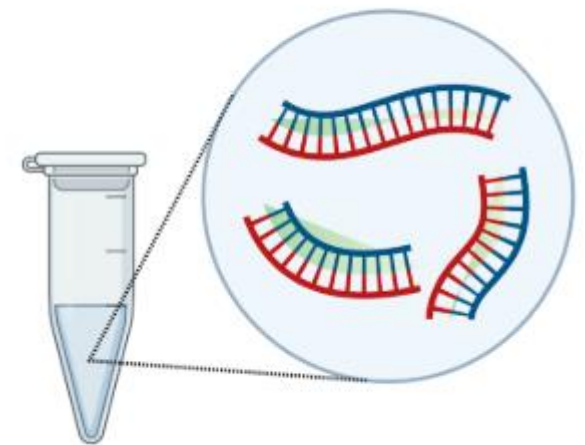
quantification range 5 to 100 ng

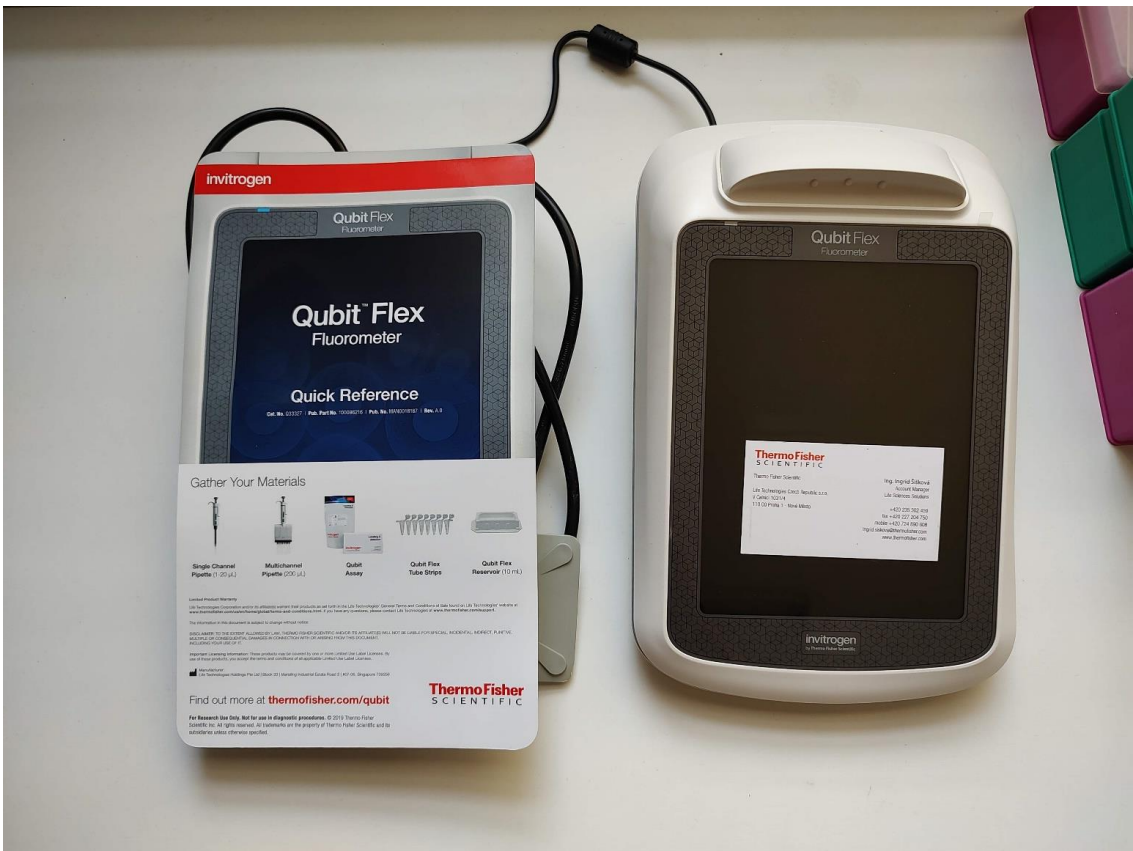
quantification range 20 to 1000 ng

quantification range 0.2 to 100 ng



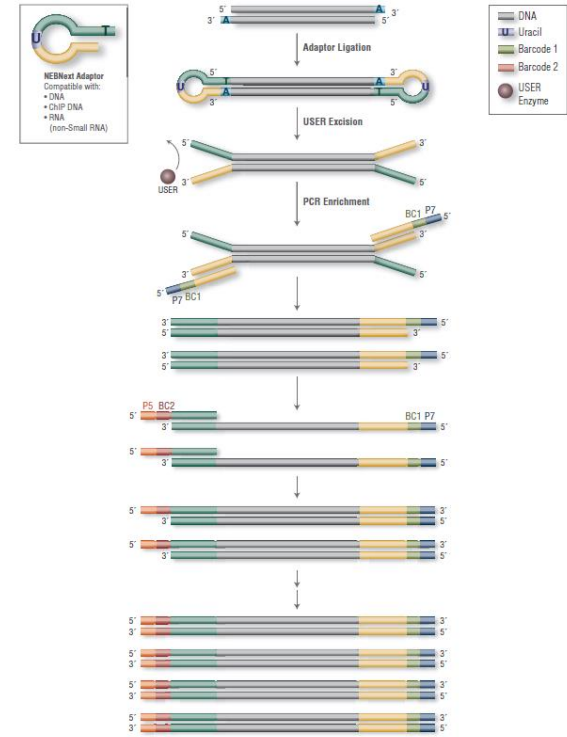
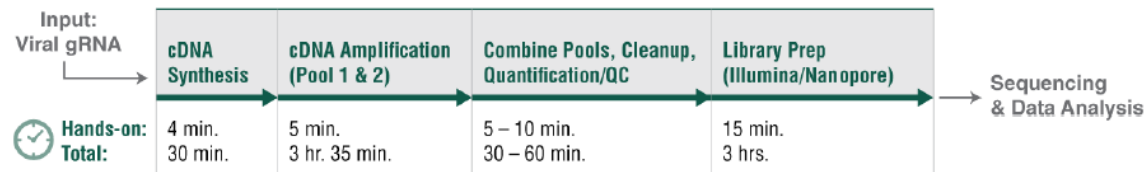
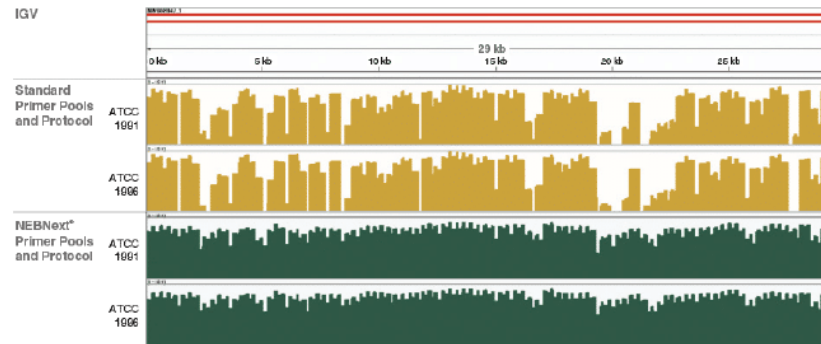
Qubit flex – 8 strip





SARS-CoV-2 NEB protokol (HERA 1)

- NEBNext kit ma menej krokov, jednoduchší, lacnejší
- Male zmeny v Biomek i5 programe, zmena plastov
- Kúpiť tip loader – výrazne viac použiteľných špičiek
- Automatizovať poolovanie bez normalizácie – NEBNext
- Validovať program, aj s rôznym počtom vzoriek



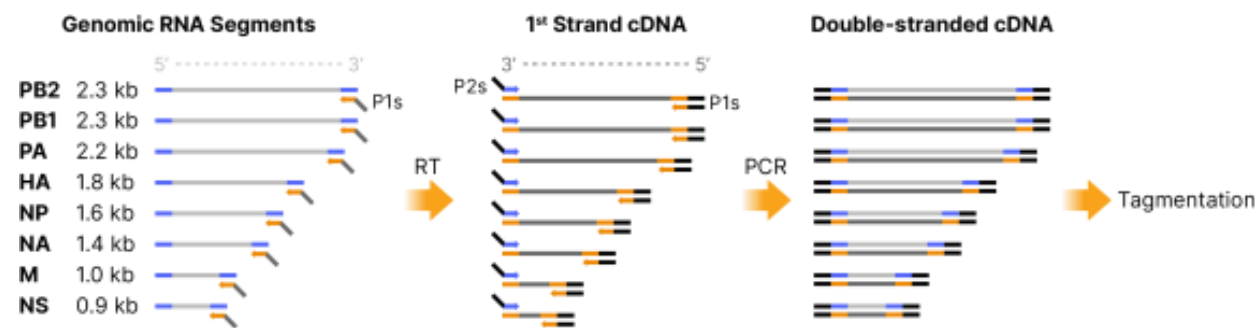
Citation Docs Settings What's new English

ID	Sequence name	QC	Clade	Pango lineage (Nextclade)	Mut.	non-ACGTN	Ns	Cov.	Gaps	Ins.	FS	SC	Nucleotide sequence
0	hCoV-19/Czech Republic/NRL_55516/20	N M P C F S	22B [Omicron]	BA.5.2	75	0	434	98.5%	33	0	0	0	
1	hCoV-19/Czech Republic/NRL_55517/20	N M P C F S	22B [Omicron]	BA.5.2	72	0	366	98.8%	33	0	0	0	
2	hCoV-19/Czech Republic/NRL_55518/20	N M P C F S	22B [Omicron]	BE.1.1	74	0	539	98.2%	24	0	0	0	
3	hCoV-19/Czech Republic/NRL_55519/20	N M P C F S	22B [Omicron]	BA.5.1	71	0	563	98.1%	33	0	0	0	
4	hCoV-19/Czech Republic/NRL_55520/20	N M P C F S	22B [Omicron]	BA.5	73	0	456	98.5%	33	0	0	0	

WGS protocol Influenza, RSV – Dragen/Artic



- In testing
- Illumina amplicon-based targeted sequencing Influenza A/B
- 16 universal Influenza A/B primers target 3' end
- Bind genomic RNA
- Then cDNA
- 500bp avg insert size



Genomic RNA

Genomics and Proteomics | Methods and Protocols | 27 February 2024

Robust and sensitive amplicon-based whole-genome sequencing assay of respiratory syncytial virus subtype A and B

Authors: Tiina Talts, Lucy G. Moss crop, David Williams, John S. Tregoning, Whitney Paulo, Arinder Kohli, Thomas C. Williams, Katja Hoschler, Joanna Ellis, Simon de Lusignan, Maria Zambon | [AUTHORS INFO & AFFILIATIONS](#)

DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.03067-23> | [Check for updates](#)

1,235

[CITE](#) [PDF/EPUB](#)

DRAGEN Targeted Microbial

BaseSpace Labs

Version: 1.3.1

[Launch Application](#)

Summary:

This app is designed to analyze sequencing libraries generated from Illumina hybrid capture (enrichment) panels or tiled amplicon panels (ie COVIDseq).

Inputs:

- FASTQ files. See details in library preparation documents

Supported hybrid-capture enrichment panels

- Viral Surveillance Panel (VSP)
- Pan-Coronavirus Panel (Pan-Cov)
- Respiratory Virus Oligo Panel (RVOP)

cDNA

PB2 5' GAAUUGUUUAAAAACGACCUUGUUUCUACU 3'

HA 5' UUGUAGUUUAAAAACACCUUGUUUCUACU 3'

Uni13 / INF-1 5' GGAACAAAGATGATTATTGGGC 3'

Uni12 / INF-3 5' GGGGGGAGCGAAAGCAGG 3'

Uni12 / INF-1 5' GGGGGGAGCGAAAGCAGG 3'

PB2 cDNA 5' TCGCTTTCGTCCAGTTTATATAAGTTATAC 3'

HA cDNA 5' TCGCTTTCGTCCCAAGTTAGACAGTTTTA 3'



- LunaScript RT
- Amplification in four PCRs
 - RSV_A Scheme1_Pool1, Scheme1_Pool2, Scheme2_Pool1, and Scheme2_Pool2
- Illumina DNA Prep Sample Preparation Kits
- Read 150, 200 or 300 cycle chip

[RSV_wgs](#) / [RSVA](#) / [RSVA1](#) / [RSVA1_750_850.primers.bed](#)

Add files via upload

CodeBlame52 lines (52 loc) · 4.16 KB

1	RSVA_1_final_mask	73	94	RSVA1_750_850_1_LEFT	1	+	ATGGGCAGCACTCATTGAGT
2	RSVA_1_final_mask	806	829	RSVA1_750_850_1_RIGHT	1	-	GTGCTTCCCACTTTGTGCAATAG
3	RSVA_1_final_mask	628	652	RSVA1_750_850_2_LEFT	2	+	ACCACAAAGACTGATGATCACAGA
4	RSVA_1_final_mask	1450	1478	RSVA1_750_850_2_RIGHT	2	-	CAGTTGTTAAGCTTGCTAATGTTAACAC
5	RSVA_1_final_mask	1325	1352	RSVA1_750_850_3_LEFT	1	+	TGCTAGATTAGGAAGAGAAGACACCA
6	RSVA_1_final_mask	2123	2147	RSVA1_750_850_3_RIGHT	1	-	CTTGATTCTTGGTGACCTCTGT
7	RSVA_1_final_mask	1994	2016	RSVA1_750_850_4_LEFT	2	+	TGGGTGGAGAAGCAGGATTCTA
8	RSVA_1_final_mask	2809	2832	RSVA1_750_850_4_RIGHT	2	-	TGGCATCTCTTATACCATCCCGA
9	RSVA_1_final_mask	2594	2620	RSVA1_750_850_5_LEFT	1	+	CCTACGCCAAGTGATAATCCTTTTTT
10	RSVA_1_final_mask	3367	3397	RSVA1_750_850_5_RIGHT	1	-	ACATTGGCTAGTTCTTTTATGAGTAGATCT
11	RSVA_1_final_mask	2966	2992	RSVA1_750_850_6_LEFT	2	+	TCTCTCAATCCAATCAGAGAACT
12	RSVA_1_final_mask	3781	3809	RSVA1_750_850_6_RIGHT	2	-	TGCATTGTGAATGGCATTTTTGAATTCA
13	RSVA_1_final_mask	3650	3677	RSVA1_750_850_7_LEFT	1	+	ACACATGACATCATTGCTTTATGTGAA

TABLE 3					
TABLE 3 RSV-A/B WGS assay primer scheme ^a					
Target	Scheme	Pool_id	Amplicon lengths	# Primers	# reactions per sample
RSV-A	RSV-A_1	#1	750...850 bp	26	4
		#2		26	
	RSV-A_2	#1	750...1000 bp	24	
		#2		24	
RSV-B	RSV-B_1	#1	630...690 bp	30	4
		#2		28	
	RSV-B_2	#1	650...700 bp	32	
		#2		30	

^a | Primer sequences available on GitHub: https://github.com/tiinatalts/RSV_wgs.

EQA SARS-CoV-2 & Influenza



ECDC NORMAL



CERTIFICATE OF PARTICIPATION

This is to confirm that

CENTRUM EPIDEMIOLOGY AND MICROBIOLOGY, NIPH, PRAGUE, CZECH REPUBLIC

has participated in the ECDC external quality assessment

EUROPEAN SARS-CoV-2 AND INFLUENZA BIOINFORMATICS EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT (ESIB-EQA)

Held 1 March – 12 April 2023

Participation included the following components:

SARS-CoV-2:

- SARS1 Nanopore consensus sequence generation
- SARS2 Illumina consensus sequence generation
- SARS3 Clustering and classification
- SARS4 Mutation detection

Influenza virus:

- INFL1 Nanopore consensus sequence generation
- INFL3 Clustering and classification
- INFL4 Antiviral resistance prediction

On behalf of the organisers:

Dutch National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands and Institut Pasteur, Paris, France

Ivo van Walle Etienne Simon-Loriere

On behalf of ECDC:

Olov Svartström

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) – Gustav III:s Boulevard 40 169 73 Solna – Sweden

ECDC NORMAL



CERTIFICATE OF PARTICIPATION

This is to confirm that

NATIONAL REFERENCE LABORATORY FOR INFLUENZA AND NONINFLUENZA RESPIRATORY VIRAL DISEASES, NATIONAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH, PRAGUE, CZECH REPUBLIC

has participated in the ECDC external quality assessment

EUROPEAN SARS-CoV-2 AND INFLUENZA BIOINFORMATICS EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT (ESIB-EQA)

Held 1 March – 1 April 2024

Participation included the following components:

SARS-CoV-2:

- SARS2 Illumina consensus sequence generation
- SARS3 Clustering and classification
- SARS4 Mutation detection

Influenza virus:

- INFL1 Nanopore consensus sequence generation
- INFL3 Clustering and classification
- INFL4 Antiviral resistance prediction and host adaptation mutations

On behalf of ECDC:

Karl Ekdahl, Head of Unit Disease Programmes

On behalf of the organisers:

Dutch National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands and Institut Pasteur, Paris, France

Ivo van Walle Etienne Simon-Loriere

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) – Gustav III:s Boulevard 40 169 73 Solna – Sweden

WGS protocol Monkeypox

- Experimental - ongoing
- Untargeted DNA seq
 - Illumina DNA prep: fast, cheap, flexible
 - Insert size ~350bp
- Low capacity protocol ~200kbp genome
- High virus concentration



Mpox virus sequencing

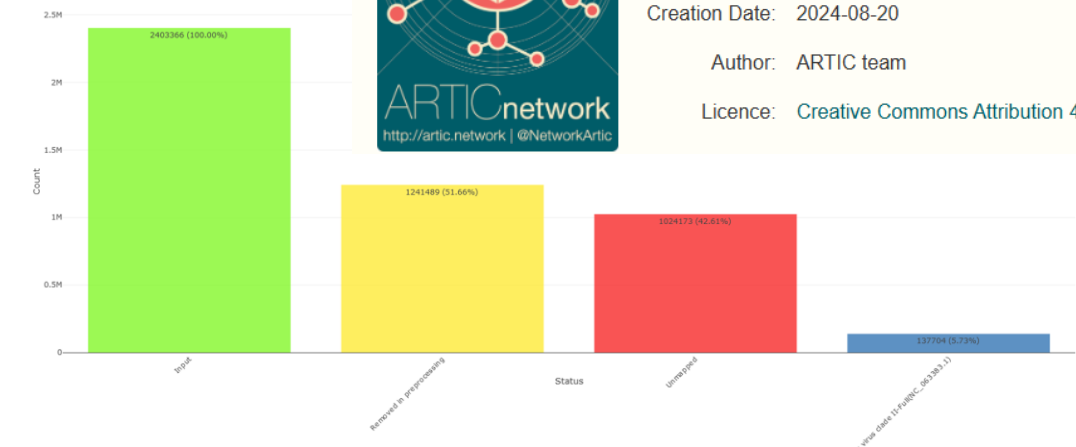
A guide to sequencing for genomic epidemiology

Document: ARTIC-MPXV-guide-v1.0.2

Creation Date: 2024-08-20

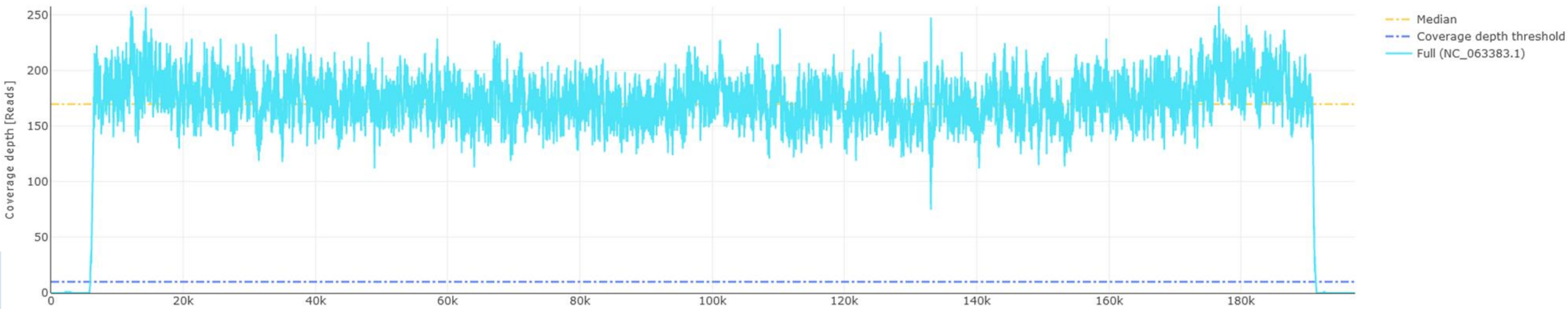
Author: ARTIC team

Licence: Creative Commons Attribution 4.0 International License



seqName	clade	outbreak	lineage	coverage	qc.overallStatus
c4303_22	IIb	hMPXV-1	B.1	0.939993	good

Monkeypox virus clade II



© 2008 - 2025 | [Terms of Use](#) | [Privacy Notice](#) | [Help](#)

You are logged in as **Timotej Sur** - [logout](#)

Registered Users EpiFlu™ **EpiCoV™** EpiRSV™ EpiPox™ EpiArbo™ My Profile

EpiCoV™ | **Search** | Downloads | Upload

Search ▼

EPI_ISL ID

Virus name

EPI_SET ID

☐ Complete ?

Location

Host

☐ High coverage ?

Collection

 to

Submission

 to

☐ Low coverage excluded ?

Clade

Lineage

Variant

☐ With patient status ?

AA Substitutions ?

Nud Mutations ?

☐ Collection date complete ?

☐ Under investigation

☐	VIRUS NAME	PASSAGE D	ACCESSION ID ▼	COLLECTION	SUBMISSION		LENGTH	HOST	LOCATION	ORIGINATOR
☐	hCoV-19/USA/CO-CDPHE-43050041/2025	Original	EPI_ISL_19761965	2025-02-19	2025-03-04		29,706	Human	North America / United States	Public Health Agency of Canada
☐	hCoV-19/USA/CO-CDPHE-43050039/2025	Original	EPI_ISL_19761964	2025-02-19	2025-03-04		29,706	Human	North America / United States	Public Health Agency of Canada
☐	hCoV-19/USA/CO-CDPHE-43050037/2025	Original	EPI_ISL_19761963	2025-02-20	2025-03-04		29,706	Human	North America / United States	Public Health Agency of Canada
☐	hCoV-19/USA/CO-CDPHE-43050035/2025	Original	EPI_ISL_19761962	2025-02-19	2025-03-04		29,703	Human	North America / United States	Public Health Agency of Canada
☐	hCoV-19/USA/CO-CDPHE-43050033/2025	Original	EPI_ISL_19761961	2025-02-17	2025-03-04		29,706	Human	North America / United States	Public Health Agency of Canada

* B/Yamagata in 2024 recognised as extinct

Fylogenetická analýzy virů chřipky 2022-2024



CERTIFICATE OF PARTICIPATION

CENTRUM EPIDEMIOLOGY AND MICROBIOLOGY, NIPH, PRAGUE, CZECH REPUBLIC

EUROPEAN SARS-CoV-2 AND INFLUENZA BIOINFORMATICS EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT (ESIB-EQA)

Held 1 March – 12 April 2023

Participation included the following components:

- SARS-CoV-2:**
- SARS1 Nanopore consensus sequence generation
 - SARS2 Illumina consensus sequence generation
 - SARS3 Clustering and classification
 - SARS4 Mutation detection

- Influenza virus:**
- INFL1 Nanopore consensus sequence generation
 - INFL3 Clustering and classification
 - INFL4 Antiviral resistance prediction

On behalf of the organisers:
Dutch National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands and Institut Pasteur, Paris, France

On behalf of ECDC:

Ivo van Walle Etienne Simon-Loriere

Olov Svartström

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) – Gustav III:s Boulevard 40 169 73 Solna – Sweden

ECDC NORMAL



CERTIFICATE OF PARTICIPATION

NATIONAL REFERENCE LABORATORY FOR INFLUENZA AND NONINFLUENZA RESPIRATORY VIRAL DISEASES, NATIONAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH, PRAGUE, CZECH REPUBLIC

EUROPEAN SARS-CoV-2 AND INFLUENZA BIOINFORMATICS EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT (ESIB-EQA)

Held 1 March – 1 April 2024

Participation included the following components:

- SARS-CoV-2:**
- SARS2 Illumina consensus sequence generation
 - SARS3 Clustering and classification
 - SARS4 Mutation detection

- Influenza virus:**
- INFL1 Nanopore consensus sequence generation
 - INFL3 Clustering and classification
 - INFL4 Antiviral resistance prediction and host adaptation mutations

On behalf of ECDC:

On behalf of the organisers:
Dutch National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands and Institut Pasteur, Paris, France

Karl Ekdahl, Head of Unit Disease Programmes

Ivo van Walle Etienne Simon-Loriere

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) – Gustav III:s Boulevard 40 169 73 Solna – Sweden

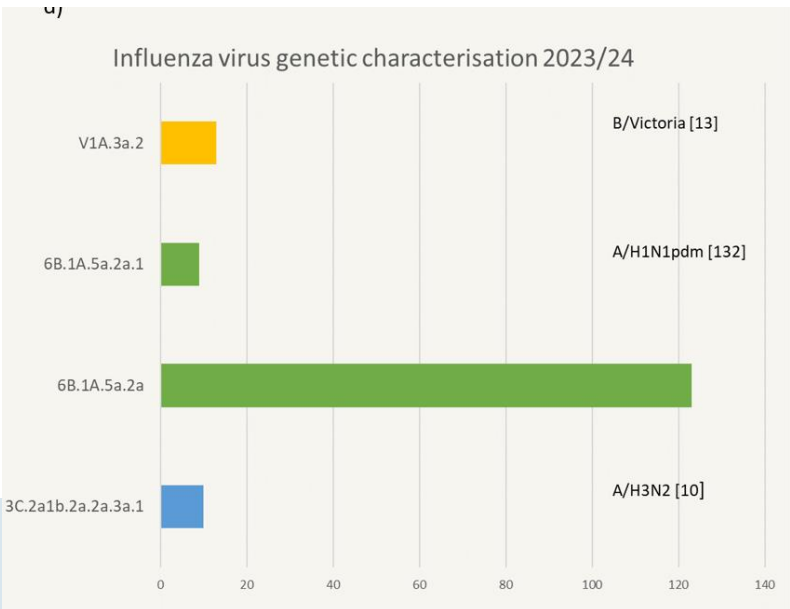
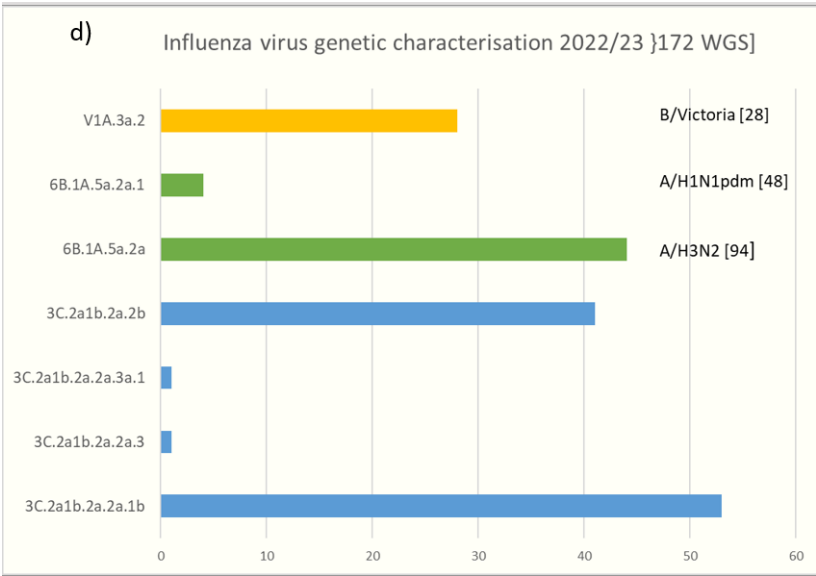
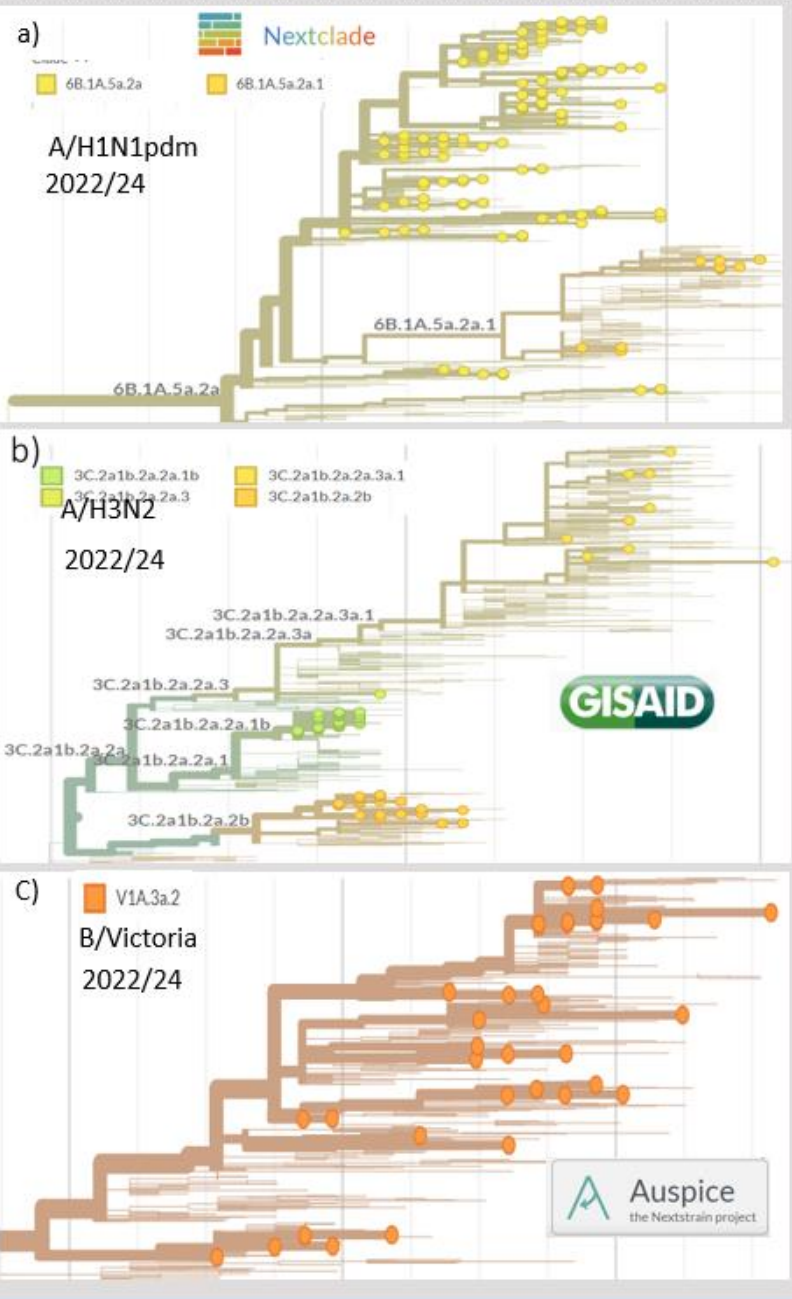
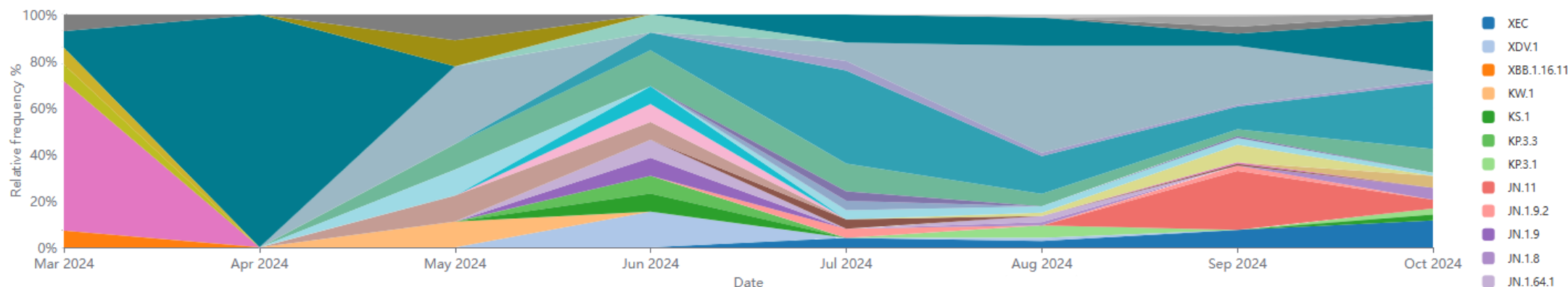
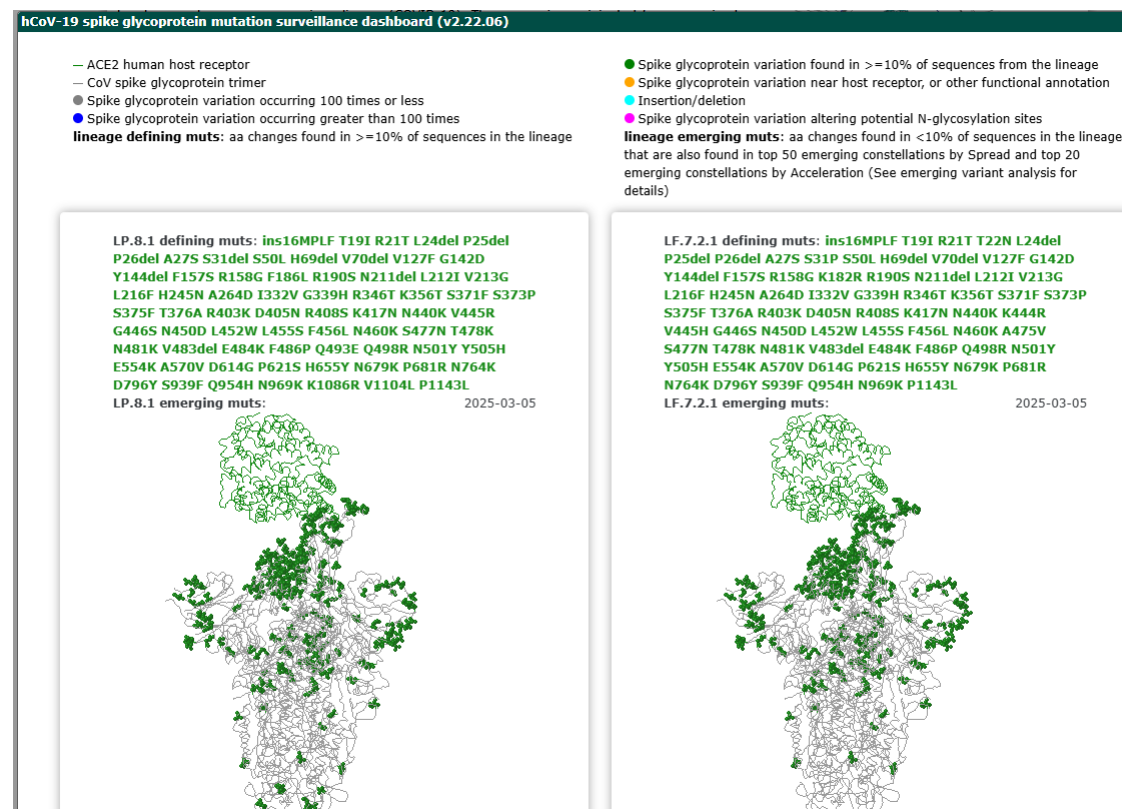
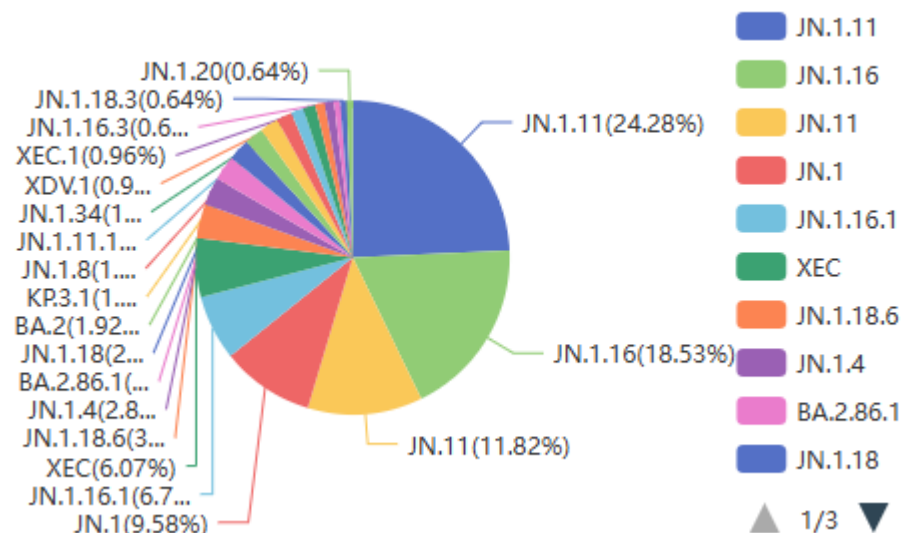


Fig. 5): Genetic characterization of Influenza viruses circulating in 2022 – 2024

a) A/H1N1pdm, B) A/H3N2. C) Infl B



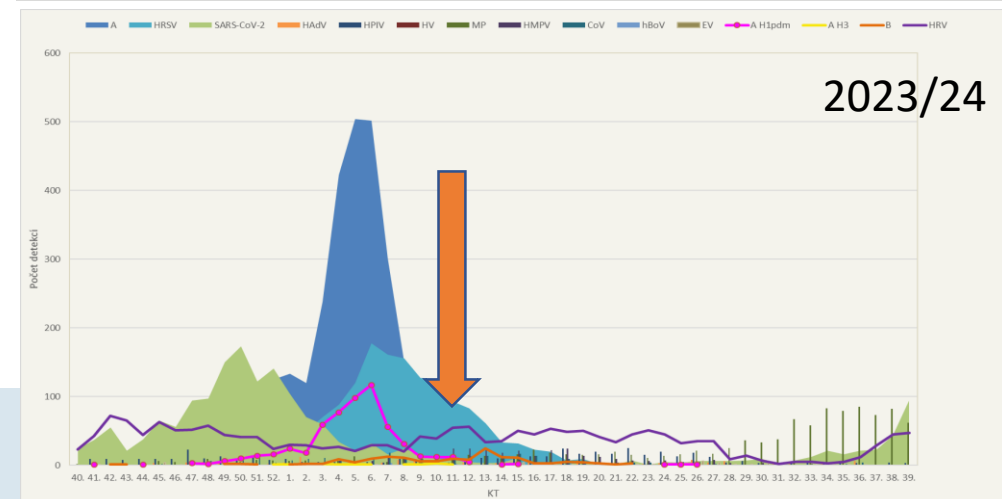
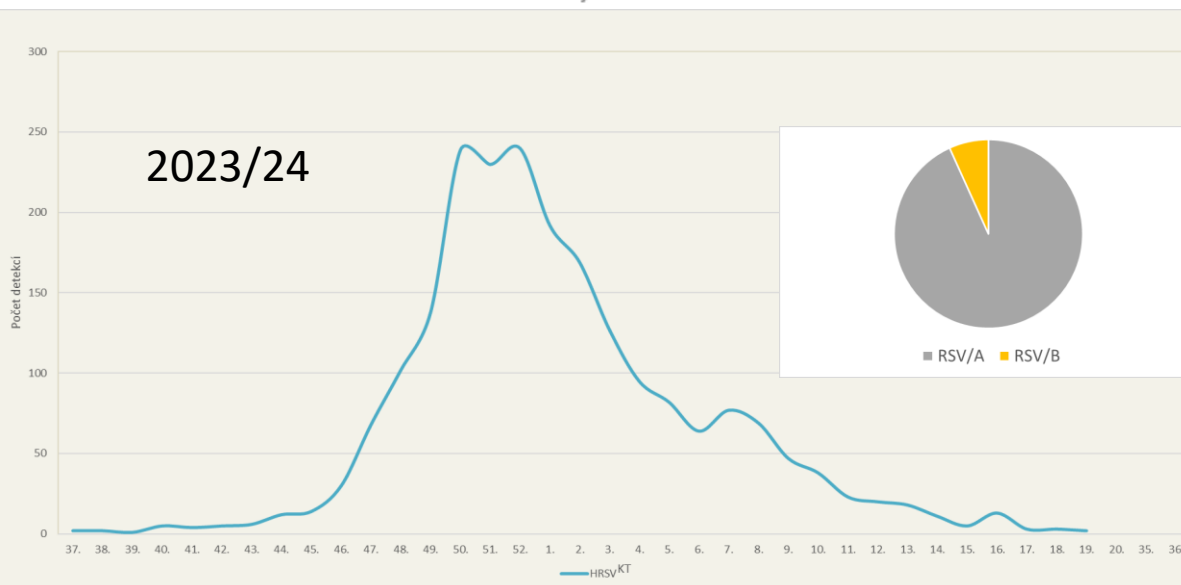
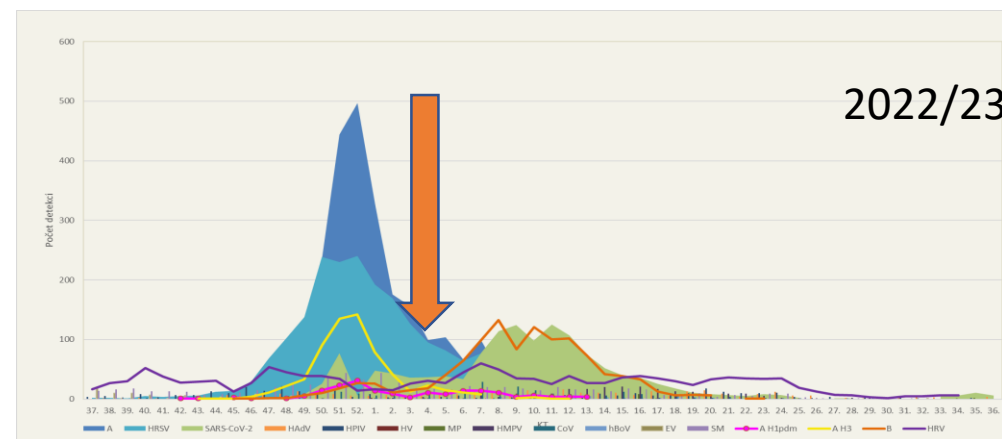
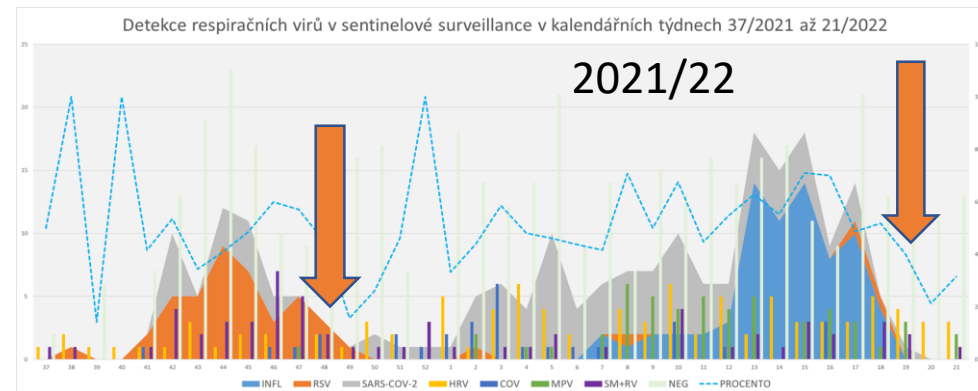
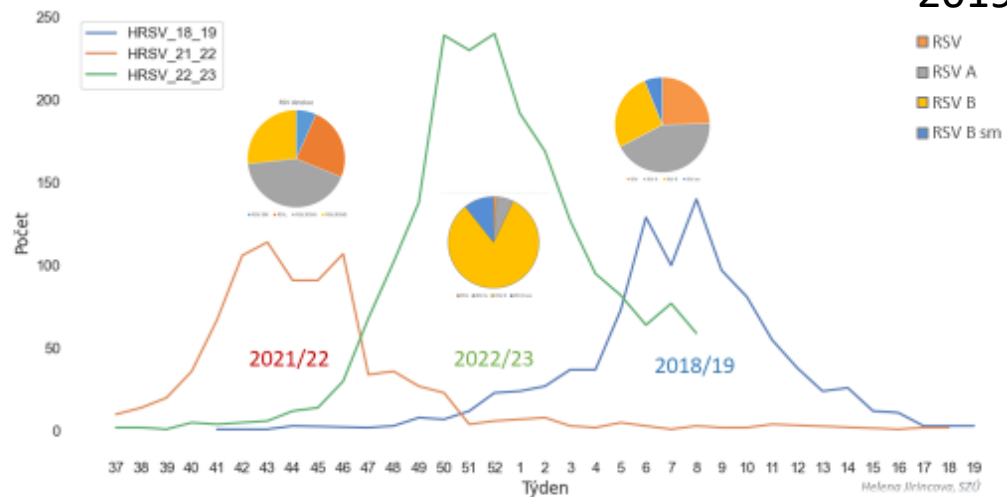
SARS-CoV-2 – molekulární surveillance (data od 1.3.24)



RSV surveillance

RSV surveillance (sentinel/non sentinel) in three seasons in the Czechia

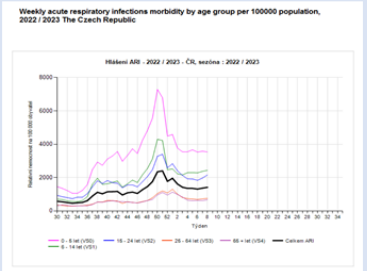
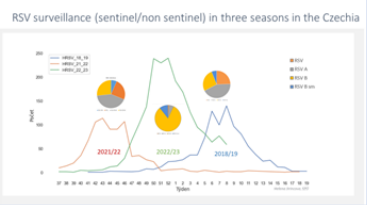
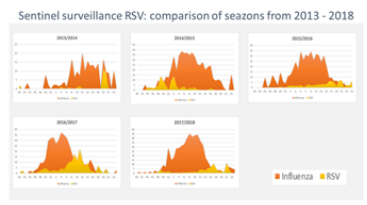
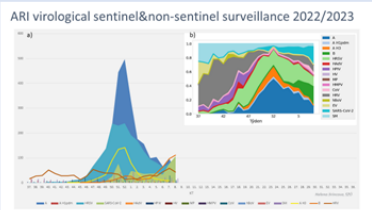
2019 - 2024



Fylogenetická analýza RSV A 2022 - 2024

Czechia

- **RSV cases:** RSV cases Figure 1a: The peak of the RSV epidemic was reached between 48 and 52 weeks. The RSV epidemic occurred in the same time frame as the influenza epidemic, which is unusual (figure 2). In the Czech Republic, the RSV epidemic usually comes after the flu epidemic. From the 48th week, the number of cases per week decreases, more steeply in sentinel surveillance than in non-sentinel surveillance. Figure 1b shows the proportion of positive RSV detections within the entire respiration panel. Figure 3 shows a comparison of RSV detection in ARI surveillance in one pre-pandemic season and two post-pandemic seasons. From 2020 till 2021 the virological surveillance was interrupted due to the pandemic.
- **RSV cases by age groups:** The unknown weekly morbidity of acute respiratory infections by age group per 100,000 population is shown in Figure 4, but due to the simultaneous epidemic of RSV and influenza, the morbidity cannot be attributed to even one of the dominant pathogens.
- **RSV cases by type:** RSV was dominant this season, as seen in Figure 2. Compared to previous seasons, this is an atypical finding where RSV A dominated (figure 3).
- **Surveillance systems:**
 1. **Sentinel surveillance** (Figure 1) 50 to 80 primary care samples from each region are examined.
 2. **Non-sentinel surveillance:** aggregate data has been collected from 14 regional hospitals.
- **Source:** National Reference Laboratory for Respiratory Viruses, Prague
- **URL link for more details:**
<https://szu.cz/centra/centrum-epidemiologie-a-mikrobiologie/celogenomova-sekvenace-v-cr-tydenni-zpravy/>
<https://szu.cz/publikace/data/akutni-respiracni-infekce-chripka/>



b)

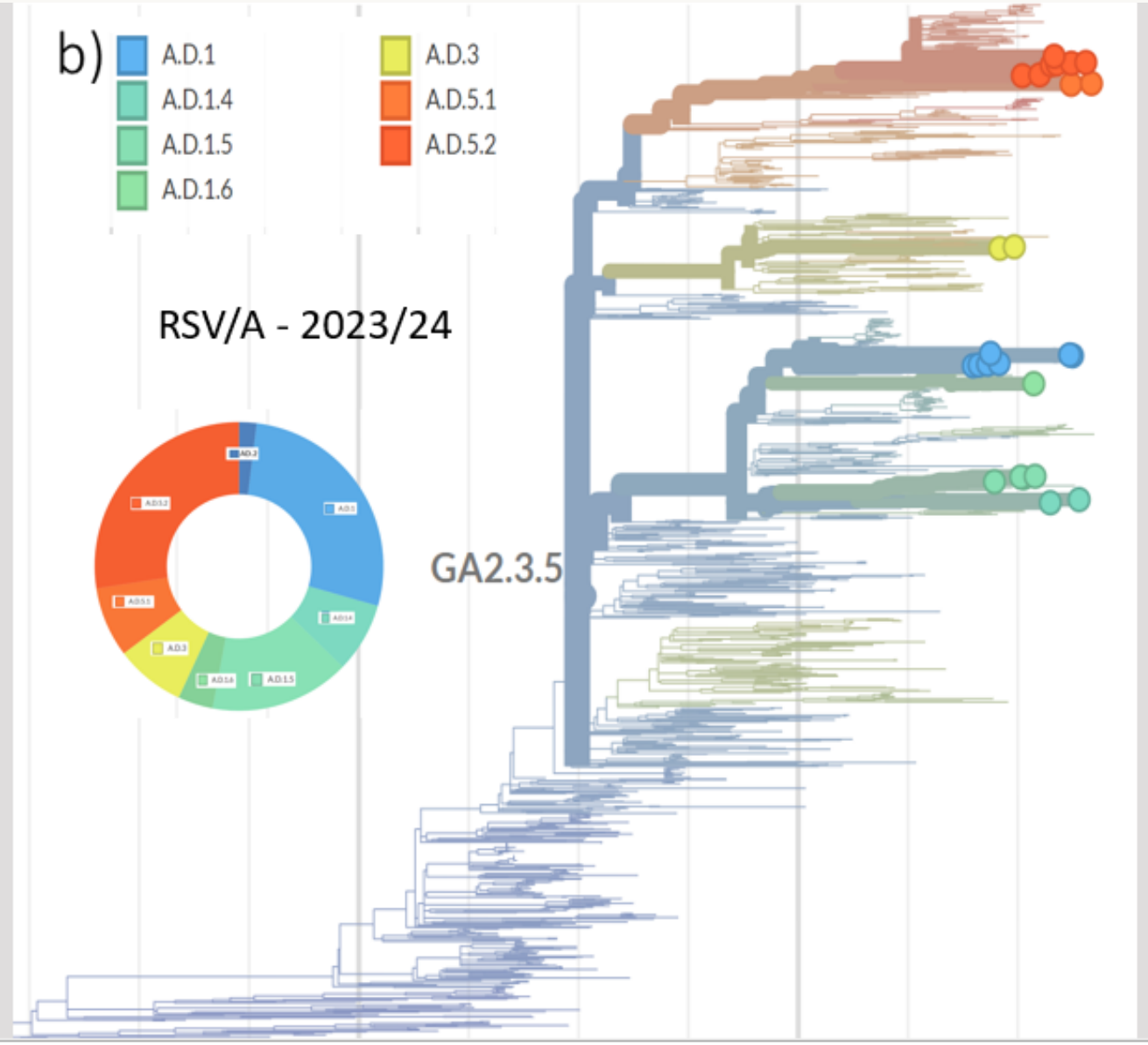
A.D.1
A.D.14
A.D.15
A.D.16

A.D.3
A.D.5.1
A.D.5.2

RSV/A - 2023/24

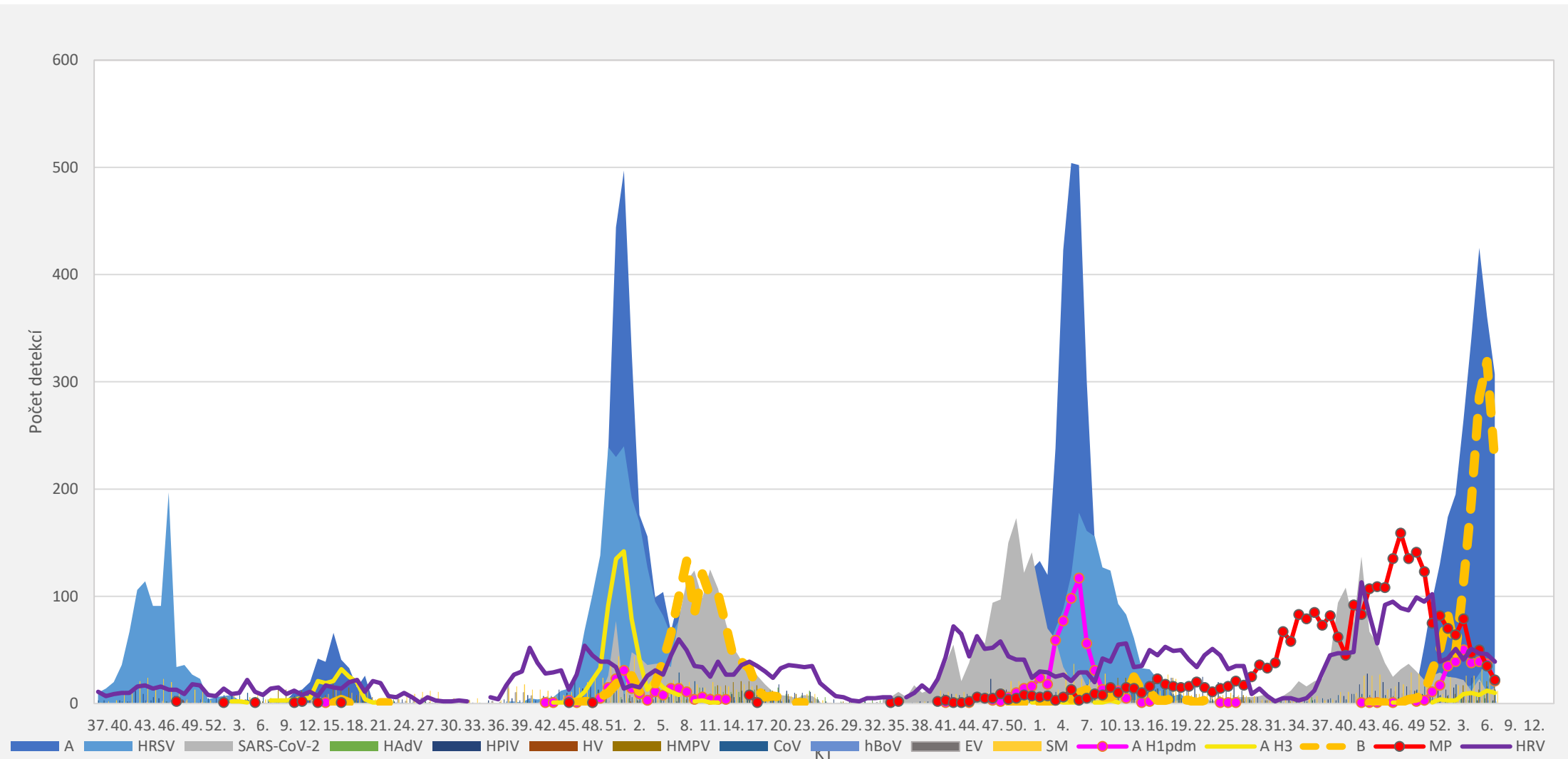


GA2.3.5



ARI/ILI virologická surveillance 2021 – 2025

Integrace SARS-CoV-2



WP.2 SARS-CoV-2 – Integration to surveillance

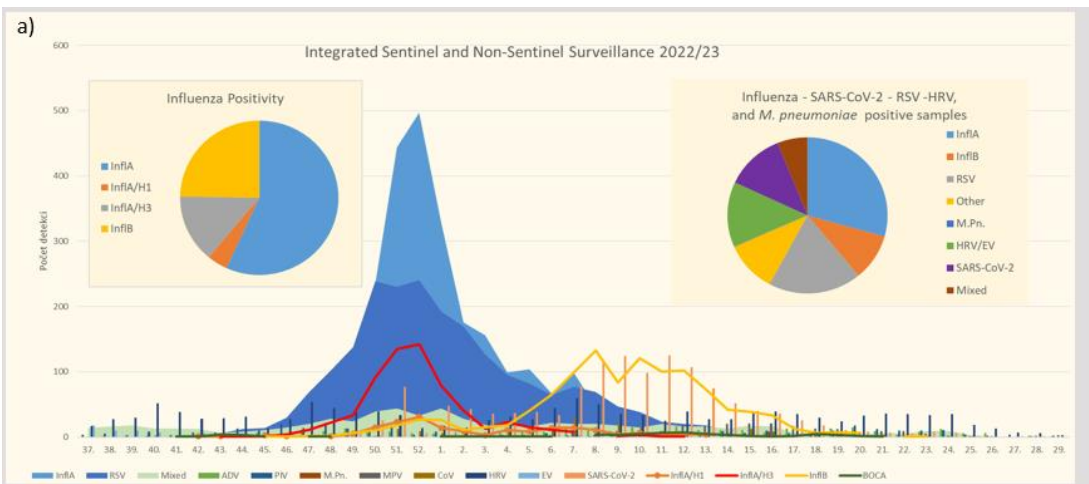
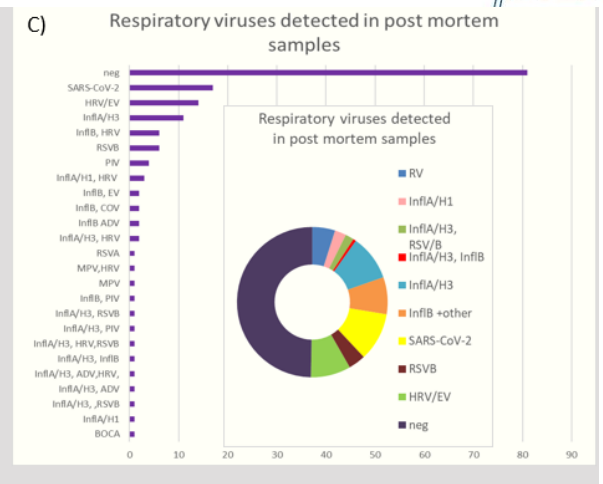
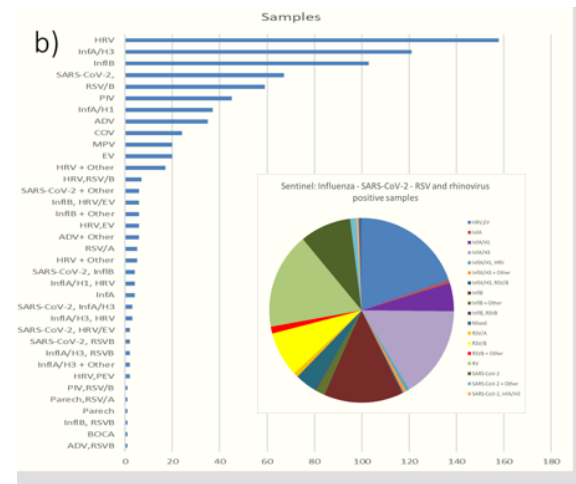
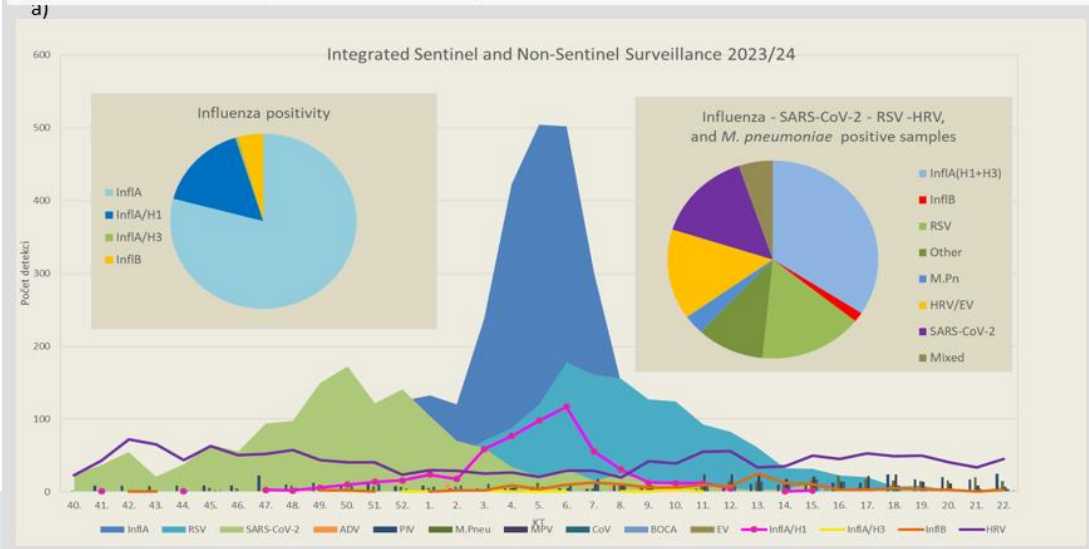


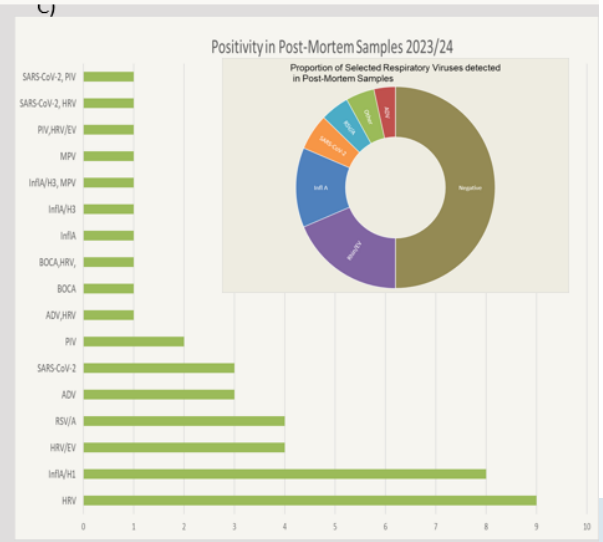
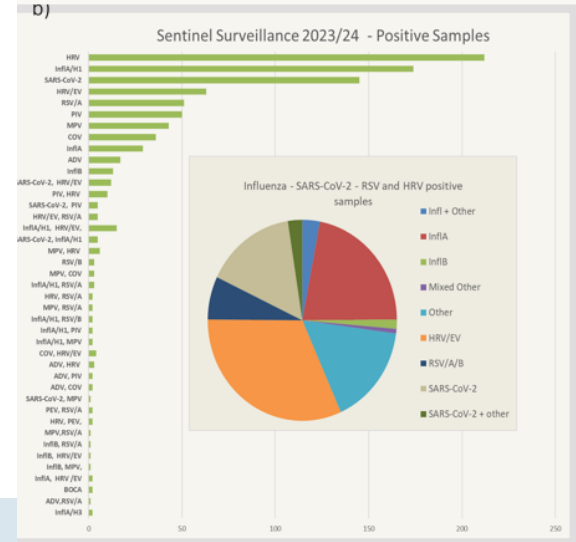
Fig. 3: Integrated Virological Sentinel and Non-Sentinel Surveillance 2023/24 -Characteristics of the season

a) Seasonal overview, b) Overview of the representation of monitored viruses in the 2023/24 season

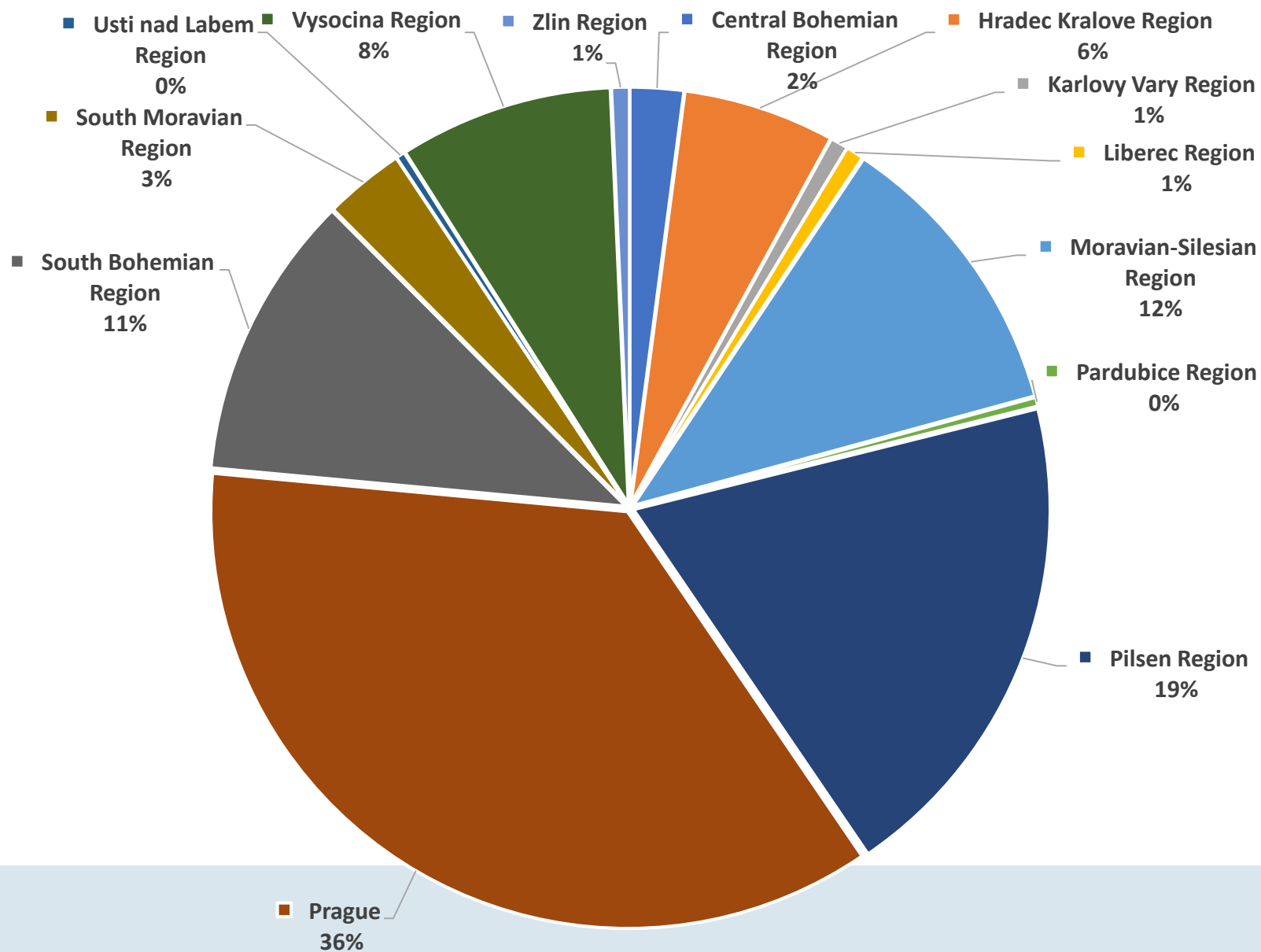


about the circulation of respiratory viruses

c) Overview of viruses detected in post-mortem samples, d) Genetic characterization of circulating influenza virus

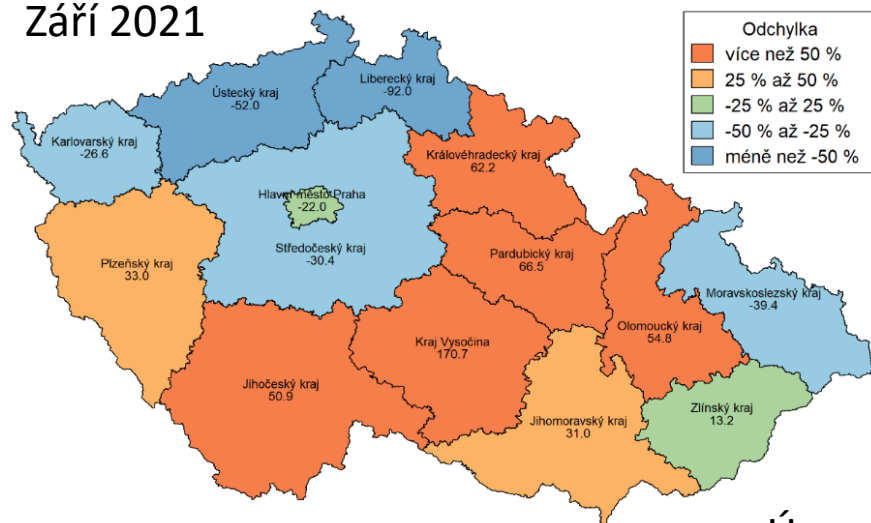


Reprezentativní vzorek - surveillance

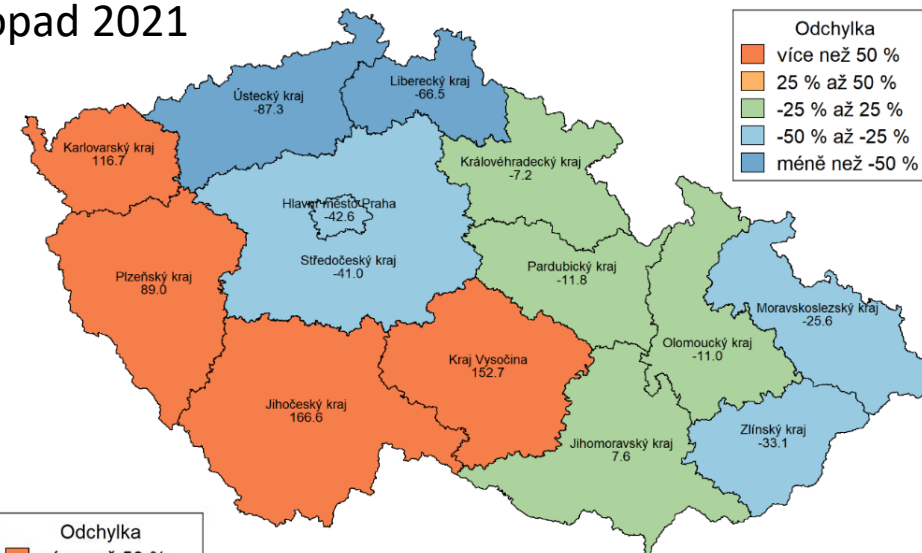


Obrázek 3: Porovnání skutečného a optimálního počtu sekvenací dle kraje za vybrané měsíce.
Optimální počet je vztažen ke skutečnému podílu všech pozitivních vzorků v kraji za vybraný měsíc.

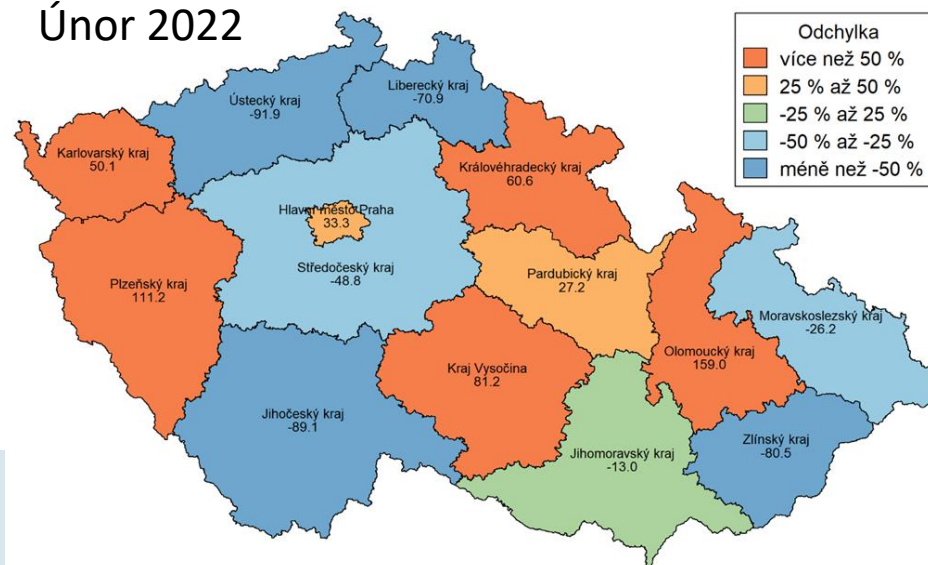
Září 2021



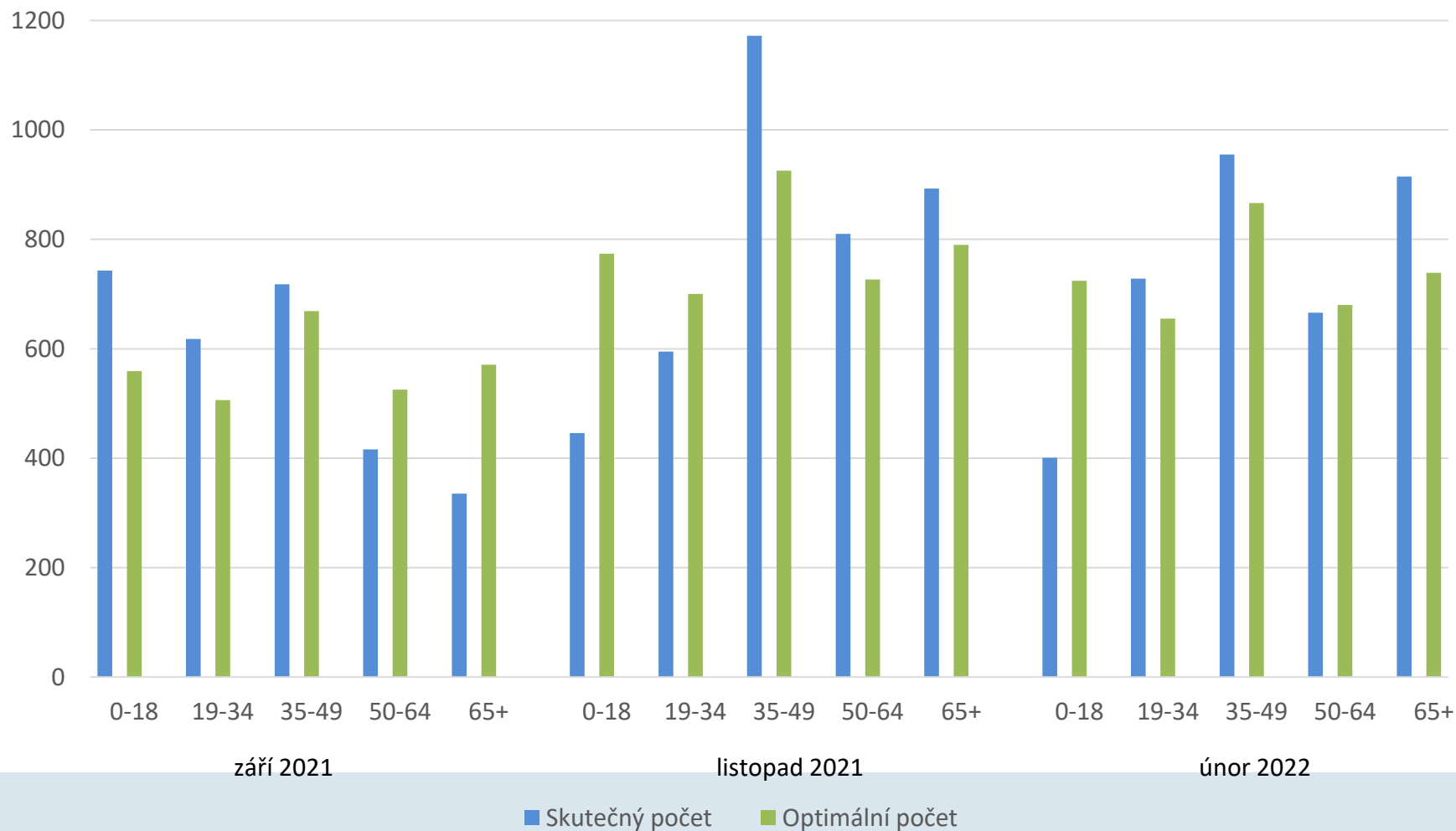
Listopad 2021



Únor 2022



Graf 1: Porovnání skutečného a optimálního počtu sekvenací dle věkových skupin za 3 vybrané měsíce. Optimální počet je vztažen ke skutečnému podílu věkové skupiny v populaci.



Algoritmus pro výběr vzorků k sekvenaci - ke zpracování dat centrální databázi ÚZIS

Algoritmus určuje výběr COVID-19 pozitivních vzorků určených k sekvenaci

- **musí fungovat v obdobích nízké i vysoké incidence**
- **musí umožňovat výběr významných vzorků k sekvenaci, zahrnující primární surveillance**
- **umožní optimální logistiku vzorků z laboratoří pro sekvenaci do jednotlivých sekvenačních center**
- **musí odpovídat aktuální sekvenační kapacitě**
- **musí umožnit měnit okrajové podmínky: např: patogen, definice reprezentativního podílu, apod.**
- **v případě více sekvenačních center musí zahrnovat o přiřazení vzorků do nejbližšího centra dle jeho kapacity**

Vzorky nasbírané za dané období jsme pojmenovali „paket“. Vzorky putující k sekvenaci pak „označený paket“.

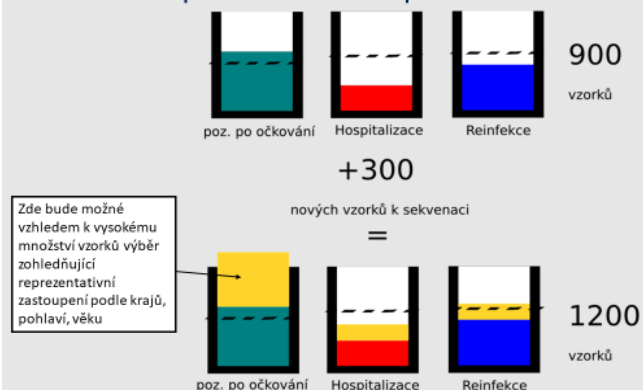
Podmínkou je dodržení chladového řetězce

Reprezentativní podíl vzorků –
dle geografického rozšíření, pohlaví, věkových kategorií

Cílený výběr –

Dle klinické závažnosti, neobvyklé klinické projevy, selhání vakcinace, reinfekce, ohniska, importy, apod.

Vizualizace přičtení nového paketu do absolutního součtu



Nad databází musí fungovat obdobný nástroj vyhodnocující existenci ohnisek a možnost importu

Verze 1 a2 : Cíl algoritmu, rozdělit sekvenace do těchto kategorií



Příklad: sekvenační kapacita 2 400 vzorků v jednom běhu ve více centrech při výběru každé pondělí a čtvrtek

Kód V1	Popis - vzorek k sekvenaci	Priorita	Minimální práh
9 V	více skupin výz. vz.	priorita 1	1000
9S	plošná surveillance	priorita 2	800 – 2400
9A	selhání vakcinace	priorita 3	300
9B	reinfeke	priorita 3	300

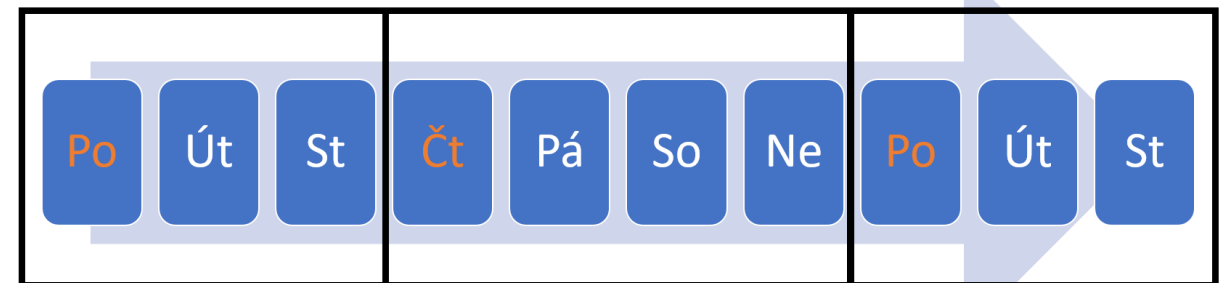
Příklad software

```

263 VICE_VYZN = 0.25
264 HOSP_50 = 0.08333
265 IMPORT = 0.04166
266 CLUSTER = 0.08333
267 REIN = 0.08333
268 OCKO = 0.08333
269 KLIN = 0.04166
270 SURV = 0.33333
271
272 params = {'ViceVyznamnych':round(VICE_VYZN*KAPACITA),
273          'Hospitalizace_50':round(HOSP_50*KAPACITA),
274          'Import':round(IMPORT*KAPACITA),
275          'Cluster':round(CLUSTER*KAPACITA),
276          'Reinfekce':round(REIN*KAPACITA),
277          'Ockovani':round(OCKO*KAPACITA),
278          'Klinika':round(KLIN*KAPACITA),
279          'Reprezentativni':round(SURV*KAPACITA)}
280
281 columns = ['ViceVyznamnych', 'Hospitalizace_50', 'Import', 'Cluster', 'Reinfekce', 'Ockovani', 'Klinika']
282
283 over = [data['ViceVyznamnych'].sum() >= round(VICE_VYZN*KAPACITA),
284         data['Hospitalizace_50'].sum() >= round(HOSP_50*KAPACITA),
285         data['Import'].sum() >= round(IMPORT*KAPACITA),
286         data['Cluster'].sum() >= round(CLUSTER*KAPACITA),
287         data['Reinfekce'].sum() >= round(REIN*KAPACITA),
288         data['Ockovani'].sum() >= round(OCKO*KAPACITA),
289         data['Klinika'].sum() >= round(KLIN*KAPACITA)]
290
291 columns_over = list(compress(columns, over))
292
293 columns_under = list(compress(columns, [not elem for elem in over]))

```

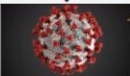
Kód V2	Popis – vzorek k sekvenaci	Priorita	Minimální práh
9V	více skupin výz. vz.	priorita 1	600
9H	hospitalizace do 50let	priorita 2	200
9I	import	priorita 2	100
9C	cluster	priorita 2	200
9R	reinfeke	priorita 2	200
9O	selhání vakcinace	priorita 2	200
9K	neobvyklé klinické projevy	priorita 2	100
9S	plošná surveillance	priorita 3	800 - 2400



Kód – označení proč je vzorek sekvenován

Priorita – pořadí, ve kterém se vzorek vyhodnocuje





Virologická surveillance - samoodběry - PCR testování
v Národní referenční laboratoři pro chřipku a nechřipková virová

Úvod O nás Služby Rezervace Kontakt

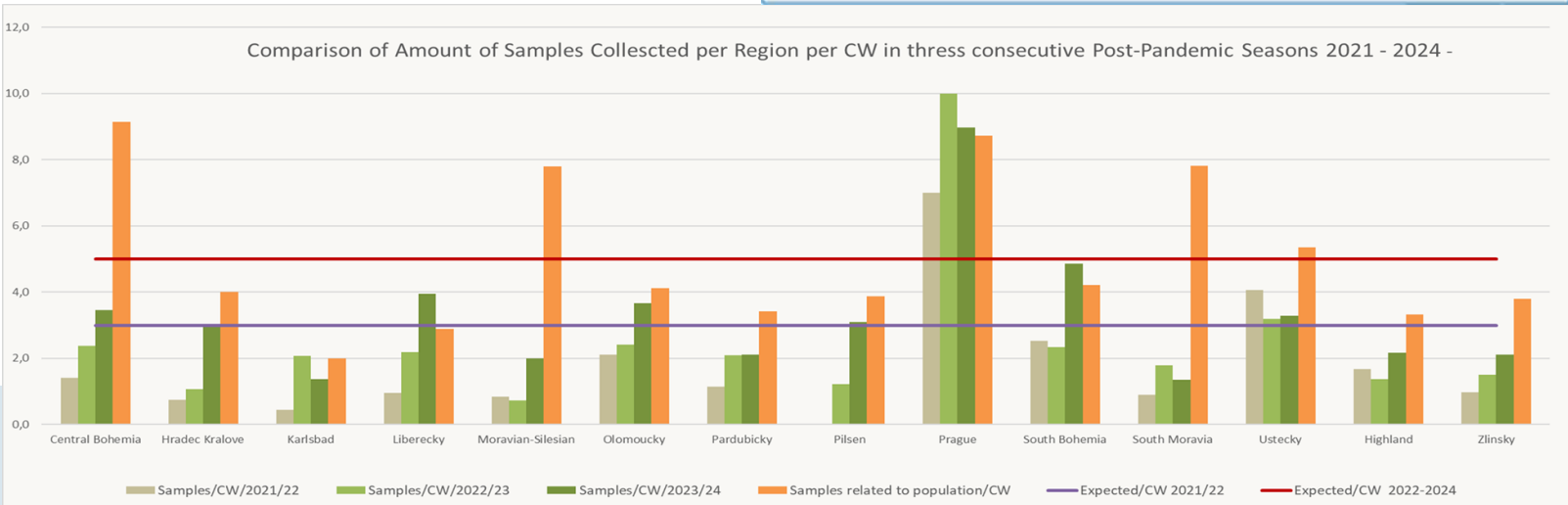
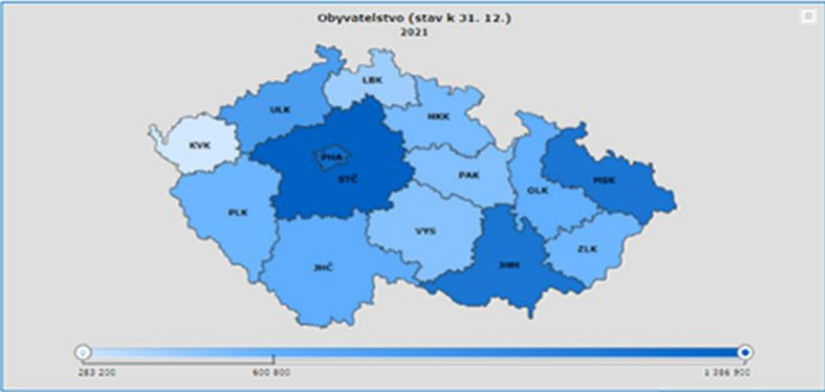


Co-funded by the European Union

HERA2CZ

WP2 CORINFES

Sentinel surveillance - ověření
samoodběrů jako relevantního zdroje
pro virologickou surveillance
Non.sentinel surveillance – usnadnění
sběru dat ze spolupracujících laboratoří



Sekce 1 z 4

Non sentinelová virologická ARI/ILI /SARS-CoV-2 surveillance

Non sentinelová virologická ARI/ILI /SARS-CoV-2 surveillance

Po sekci 1 Přejít do sekce 2 (Název laboratoře:)

Sekce 2 z 4

Název laboratoře:

Popis (nepovinný)

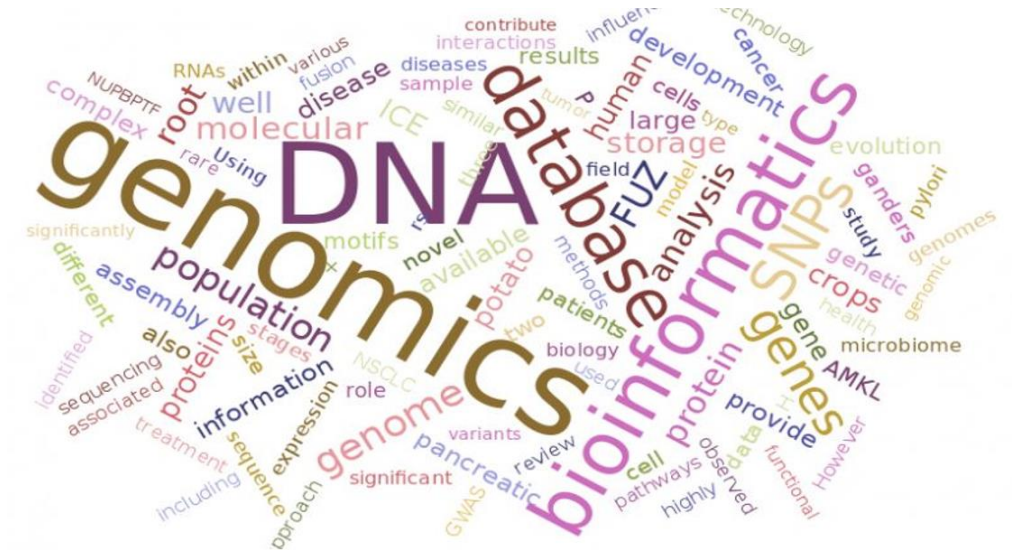
Důvod vyšetření (pro všechnu odpovědi)

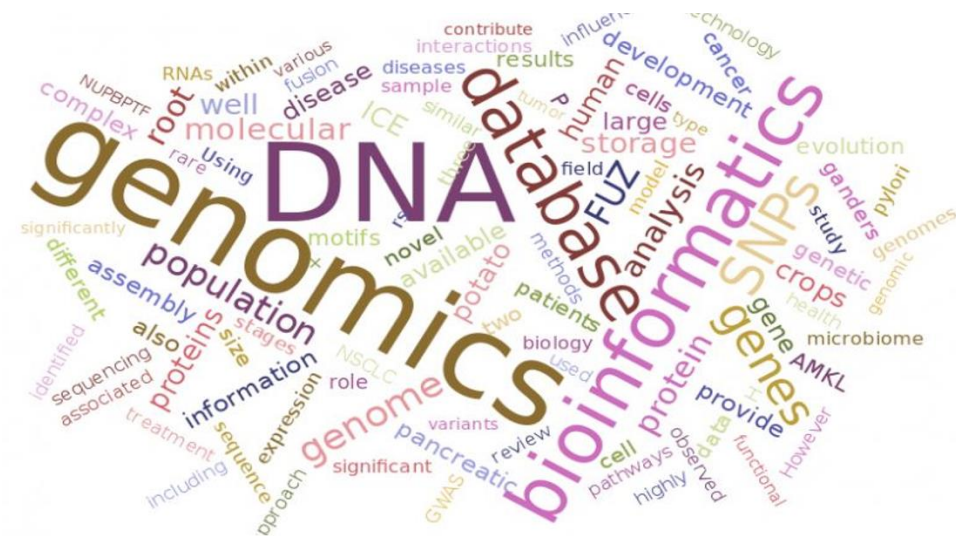
- ☐ Primární péče - dospělí
- ☐ Primární péče - pediatrická ambulance
- ☐ Hospitalizace - dospělí
- ☐ Hospitalizace - děti
- ☐ Hospitalizace na JIP/ARO/ECMO
- ☐ Není uvedeno



Timotej Suri, MSc., Ing. David Vostřák

Mgr. Jaromira Vecerova PhD, Alena Janypkova





WP.2 NRL pro chřipku a nechřipková virová respirační onemocnění

+420 726 362 602