WP2 CORINFES

Molekulární surveillance a využití WGS u vybraných respiračních virů

101113387 — HERA2CZ — EU4H-2022-DGA-MS-IBA-1

Timotej Šúri, David Vostřák, Helena Jiřincová

NRL pro chřipku a nechřipková virová respirační onemocnění, Státní zdravotní ústav, Praha

helena.jirincova@szu.cz

ÚVOD

Respirační viry představují významnou skupinu patogenů, přičemž viry chřipky A/B, SARS-CoV-2 a RSV jsou příčinou každoročních epidemií (obr 5). Proti těmto virům je dostupná vakcína i specifická léčba. Všechny tyto viry obsahují jako genetickou informaci RNA, a proto vykazují vyšší míru proměnlivosti (obr.1). Mohou tedy unikat jak před protilátkami navozenými vakcinací, tak před specifickou antivirotickou léčbou. Jak u virů chřipky tak u SARS-CoV-2 a RSV může v důsledku jejich proměnlivost docházet k úniku před vakcínou navozenými protilátkami, tak před léčbou (obr. 1). Proto je třeba sledovat sledovat aktuálně cirkulující varianty v populaci včetně jejich úplné charakterizace metodou celogenomové sekvenace (WGS), tzv. molekulární surveillance. WP2, pod akronymem CORINFES řeší komplexně přístup k molekulární surveilanci těchto vybraných respiračních virů, včetně možnosti rozšíření sentinelové surveillance o možnost samoodběru, dále zjednodušení hlášení pozitivních detekcí respiračních virů (non-sentinel surveillance) prostřednictvím webového nástroje aplikace.

Dalším cílem bylo zvýšení sekevnační kapacity a současně zajištění reprezentativního, nikoli náhodného, výběru vzorků pro sekvenaci. V tomto případě jsme vycházeli s pandemické situace, kdy bylo testováno velké množství vzorků, ale sekvenační kapacity byly významně nižší, než kapacity PCR. Výběr reprezentativního podílu se ukázal jako důležitý faktor pro maximální využití sekvenačních kapacit a přitom zachování vysoké výpovědní hodnoty pro epidemická šetření a charakterizaci cirkulujících variant. V rámci posílení sekvenačních kapacit s výstupem na minimalizaci přeshraničních hrozeb byl WP2 cílen na rozšíření WGS o viry A/H1N1 pdm A/H3N2, B/Victoria, B/Yamagata, RSV/A a RSV/B a MPXV .

MATERÁL A METODY

Surveillance – výběr reprezentativního vzorku: program v jazyce Python s použitím okrajových podmínek důležitým pro rovnoměrné pokrytí populace.

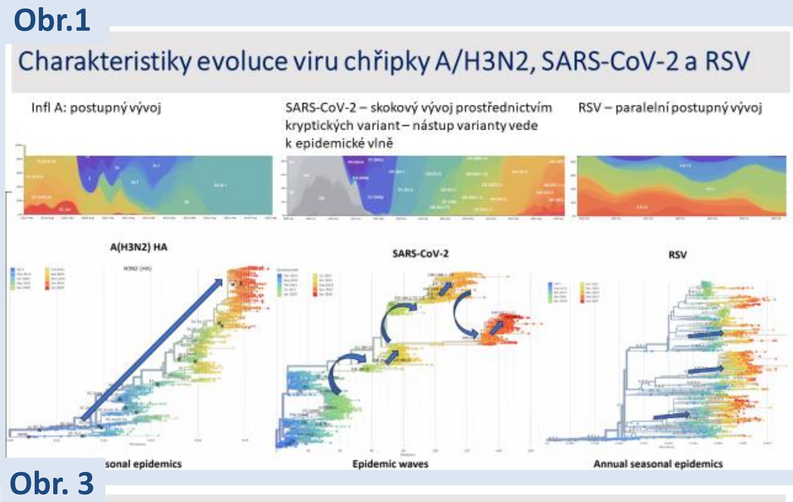
Pro tvorbu web nastrojů byly využity nástroje integrované v MS Office a volně dostupný nástroj WEBNODE.

Pro celogenomovou sekvenaci byly použity primární klinické materiály získané v rámci sentinelové a nonsentinelové virologické surveillance.

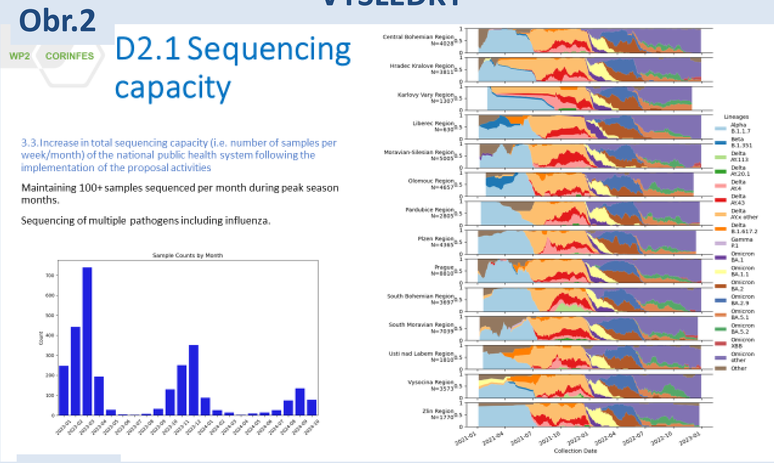
Příprava sekvenačních knihoven byla založena na amplikonové i enrinchmentové amplifikaci specifických virových sekvencí byly použity protokoly ARTIC3, in house sady primerů a komerční kity. Pro sekvenaci byli využity dvě platformy. MySeq (Illumina) a MinIon (OxfordNanopore) - obr. 7 a 10.

VÝSLEDKY

Obr.1



Obr.2



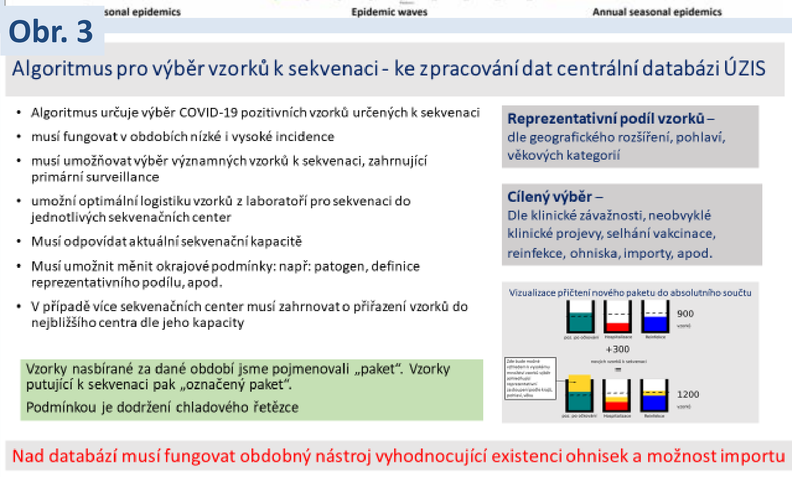
Posílení sekvenační kapacity bylo dosaženo automatizací přípravy knihoven a současně zavedením sekvenačních metod využívající platformy MiSeq Illumina.

Byl naprogramován algoritmus pro výběr reprezentativního podílu vzorků a jeho funkčnost byla ověřena na datové sadě poskytnuté ÚZIS (obr. 3, obr.4)

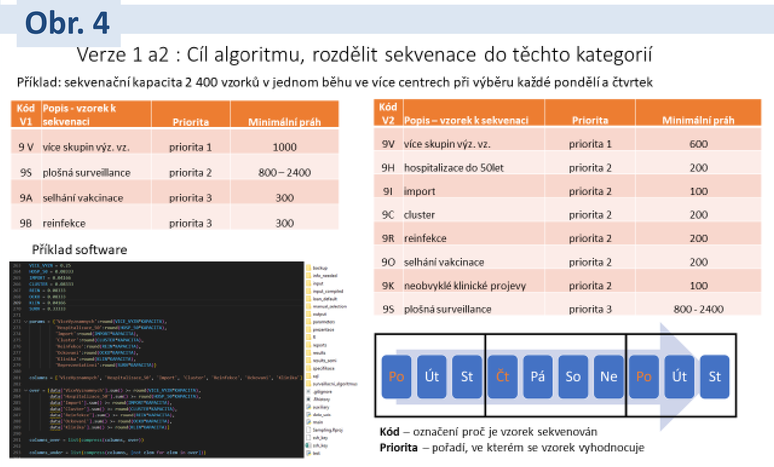
V sentinelové i nonsentinelové surveillanci jsme na základě požadavků ECDC integrovali vyšetření SARS-CoV-2 (obr5), bylo ověřeno, že vzorky získané samoodběrem jsou validní pro analýzy a byl připraven jednoduchý web nástroj umožňující tento typ sběru vzorků (obr. 6). Pro hlášení a základní zpracování výsledků detekcí respiračních virů v non sentinel surveillanci byl využit integrovaný nástroj v MS Office (obr.6).

Byla zavedena metoda WGS pro viry chřipky A/H1N1 pdm A/H3N2, B/Victoria, B/Yamagata (obr.8), pro RSV/A a RSV/B (obr.9) a rovněž pro MPXV obr.7). Počet sekvenovaných virů byl dán především aktivitou těchto virů a tedy i dostupností vzorků.

Obr. 3



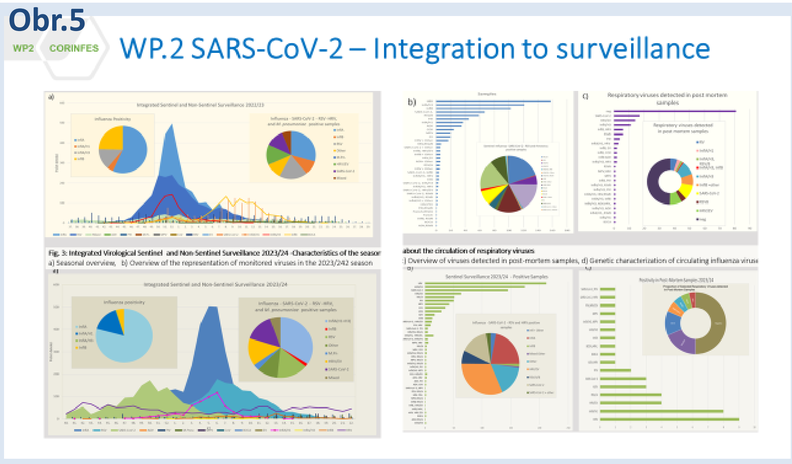
Obr. 4



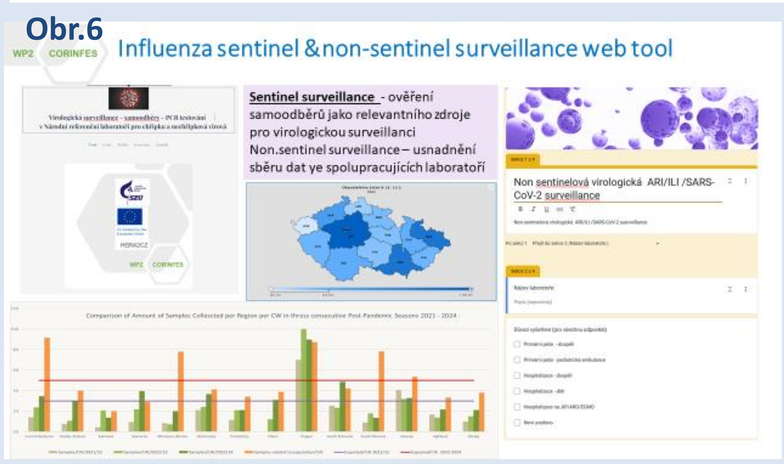
Kód V1	Popis - vzorek k sekvenaci	Priorita	Minimální práh
9 V	více skupin výz. vz.	priorita 1	1000
9S	plošná surveillance	priorita 2	800 – 2400
9A	selhání vakcinace	priorita 3	300
9B	reinfekce	priorita 3	300

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	reinfekce	priorita 2	200
9O	selhání vakcinace	priorita 2	200
9K	neobvyklé klinické projevy	priorita 2	100
9S	plošná surveillance	priorita 3	800 - 2400

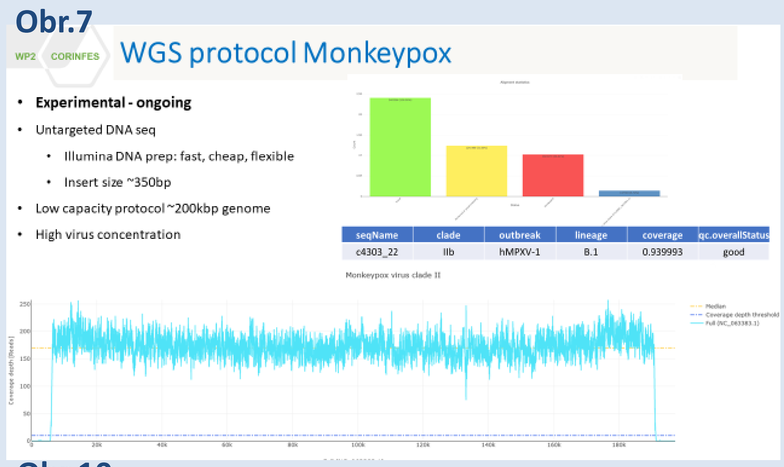
Obr.5



Obr.6

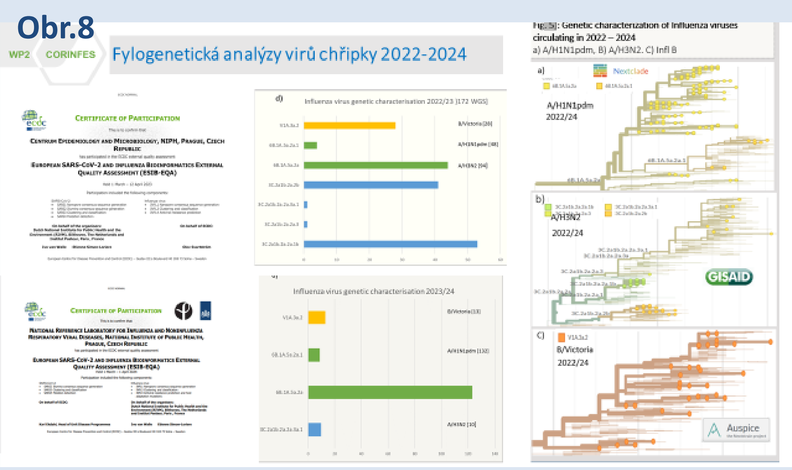


Obr.7

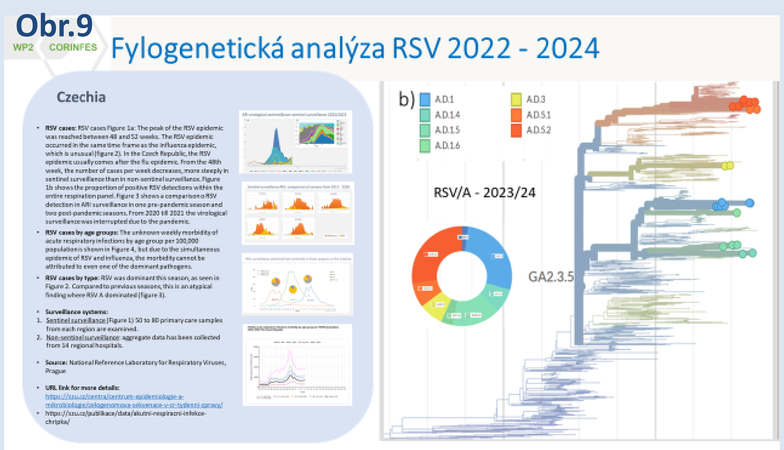


seqName	clade	outbreak	lineage	coverage	qc.overallStatus
c4303_22	IIb	hMPXV-1	B.1	0.939993	good

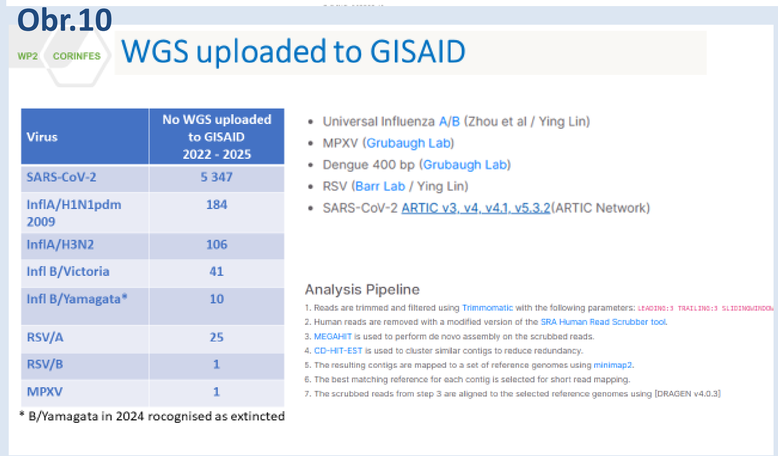
Obr.8



Obr.9



Obr.10



Virus	No WGS uploaded to GISAID 2022 - 2025
SARS-CoV-2	5 347
InflA/H1N1pdm 2009	184
InflA/H3N2	106
Infl B/Victoria	41
Infl B/Yamagata*	10
RSV/A	25
RSV/B	1
MPXV	1

Závěr

WP2 splnilas priority EU/ECDC/WHO týkajícími se integrace surveillance SARS-CoV-2 v rámci národního systému surveillance ARI/ILI a jejího propojení s daty WGS respiračními nebo nově se objevujícími viry. Společně se vytvořením algopritmu pro výběr reprezentativního podílu vzorků lo dosaženo požadavků pro možné preventivní opatření založených na důkazech vedoucí ke zmírnění dopadů epidemií nebo jiných hrozeb souvisejících šířením respiračních virů a jejich nových variant a tím k minimalizaci přeshraničních hrozeb..

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.