



Podrobná zpráva ke dni 29. 10. 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:

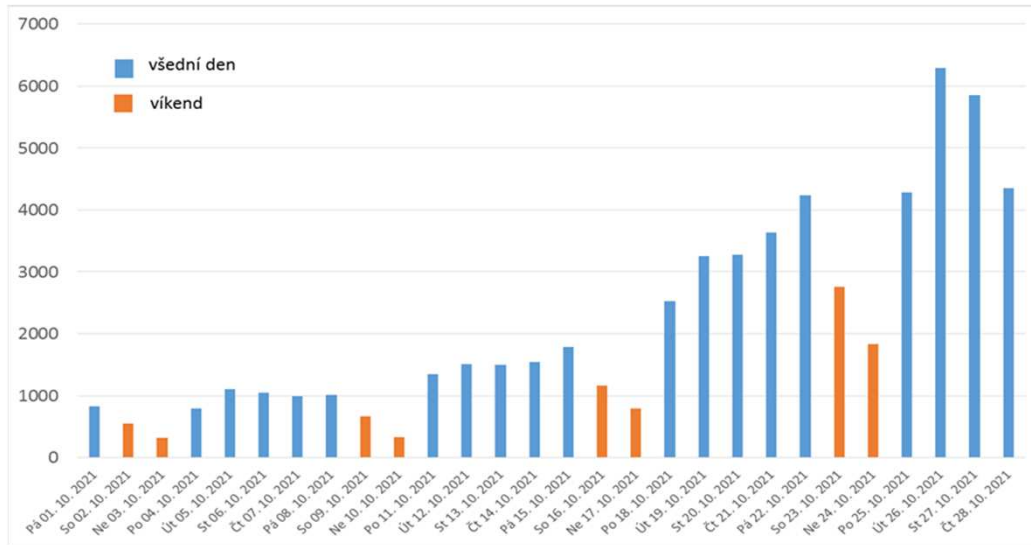
Souhrn a epidemiologický přehled	Strana 2 – 4
Vyhodnocení dat z diskriminační PCR	Strana 5
Odborná doporučení NRL a WHO	Strana 6 – 7
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace	Strana 8 – 14
Závěr	Strana 15

- V období od 15. 10. do 29. 10. 2021 má NRL k dispozici data z 34 979 provedených testů diskriminační PCR z celkem 83 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 94,5 % pozitivních případů (viz tab. 1).
- Za rok 2021 bylo k 29. 10. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 11 379 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. Celkem 772 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 29. zářím a 29. říjnem.
- Přehled aktuální epidemiologické situace:
V ČR bylo za posledních 14 dní (tj. od 15. 10. do 28. 10. 2021) zachyceno 46 009 případů SARS-CoV-2 pozitivních osob, s denním průměrem 3286,4 případů, což představuje 14denní incidenci 429,9 na 100 000 obyvatel. Vývoj počtu případů v delším časovém horizontu zobrazují grafy 1 a 2. Za uvedené období bylo nahlášeno 1 830 hospitalizací. Celkový počet hospitalizací ke konci sledovaného období činí 1 304 osob, z toho 185 osob s vážným průběhem. Nejvyšší 7denní incidence covid-19 je aktuálně hlášena v okresech Prostějov, Ostrava-město a České Budějovice, podrobně uvádí situaci graf 3.

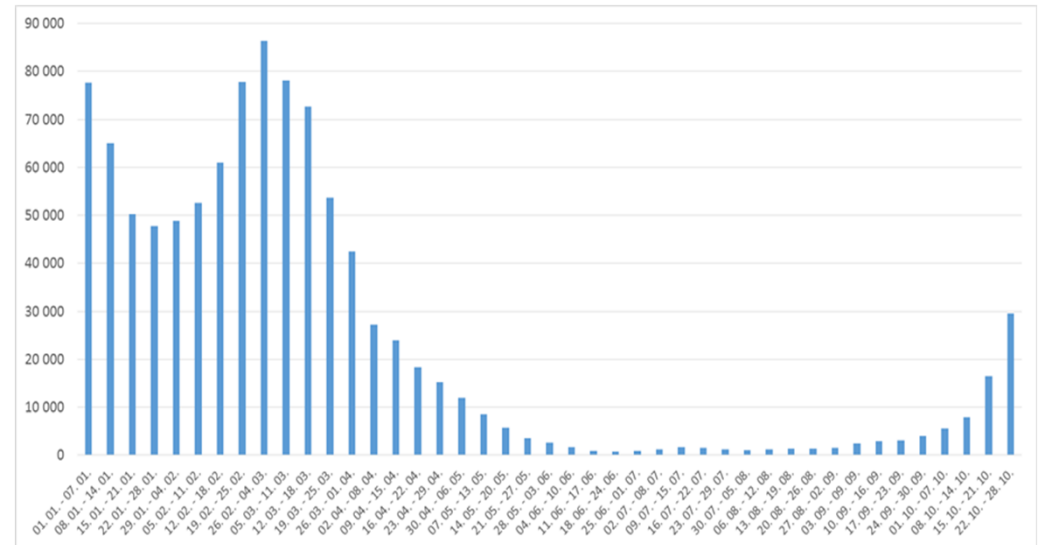


Epidemiologický přehled

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

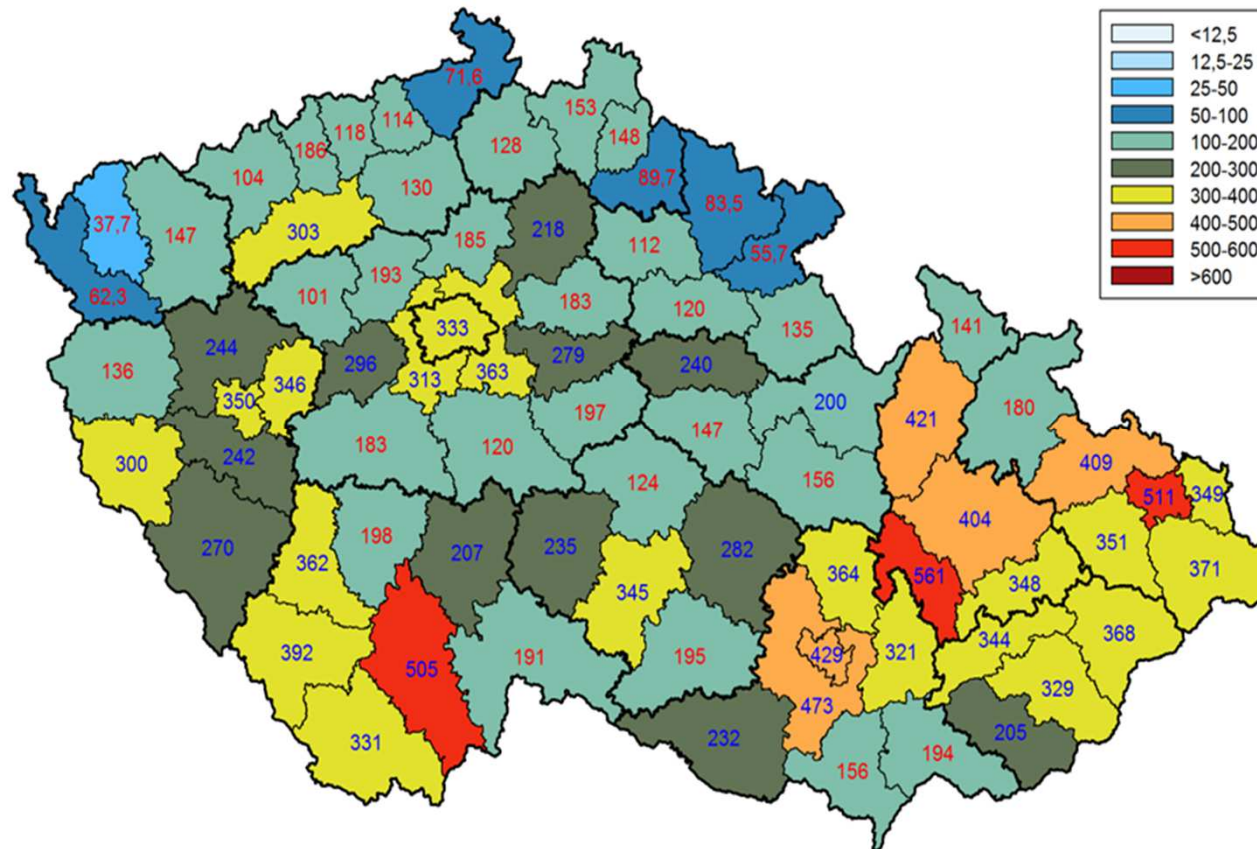


Graf 2: Týdenní počty případů covid-19 od 1. 1. 2021 do 28. 10. 2021



Epidemiologický přehled

Graf 3: 7denní incidence na 100 000 obyvatel covid-19 dle okresů ke dni 28. 10. 2021





Vyhodnocení dat z diskriminační PCR

V období od 15. 10. do 29. 10. 2021 má NRL k dispozici data z 34 979 provedených testů diskriminační PCR z celkem 83 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 94,5 % pozitivních případů (viz tab. 1).

Tabulka 1: **Přehled zachycených mutací**

Mutace	Celkem	Z toho pozitivních	Podíl ze sady	Interpretace (pouze suspektní varianta)
L452R+	32 925	31 129	94,5 %	delta, delta+
E484K+	24 327	21	0,1 %	beta, gama, alfa E484K+, delta+
L452R+, E484K+	24 068	8	0,03 %	delta+
N501Y+, L452R+	7 211	4	0,06 %	delta+
A570D+	7 053	80	1,0 %	alfa, delta + A570D



Odborná doporučení NRL. Diskriminační PCR

Diskriminační PCR:

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

- 1. Minimum – vždy povinné L452R, v případě nedostatku kapacit je možné takto vyšetřovat pouze každý třetí vzorek**
- 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 ul (tedy na reakci)**
- 3. Na sekvenaci posílejte vždy L452R negativní vzorky**
- 4. E484K je možné vyšetřovat pouze u L452R negativních vzorků a to jedenkrát za týden**
- 5. 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>



Doporučení NRL – celogenomová sekvenace

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 29. 9. – 29. 10. 2021

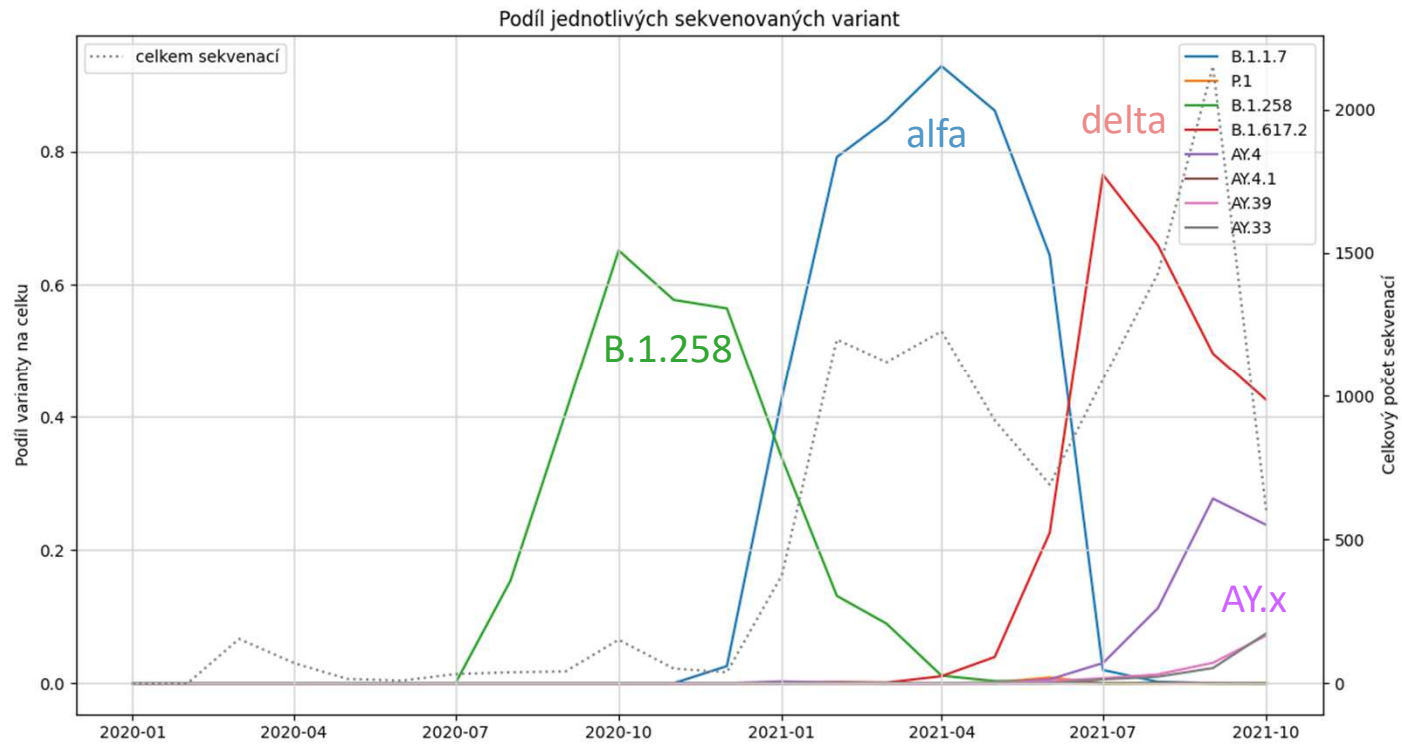
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace (WGS):

Za rok 2021 bylo k 29. 10. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 11 379 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. Celkem 772 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 29. zářím a 29. říjnem.

Podíl původní varianty delta období 29. 9. – 29. 10. je 42,36 %. Dle celogenomové sekvenace zaznamenáváme nárůst subvariant delta varianty - AY.4, AY.33, AY.39, které se šíří i v dalších zemích. Podíl subvarianty AY.4 v tomto období činí 25,65 %, podíl AY.33 činí 7,12 %, podíl AY.39 je 6,35 %. 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).

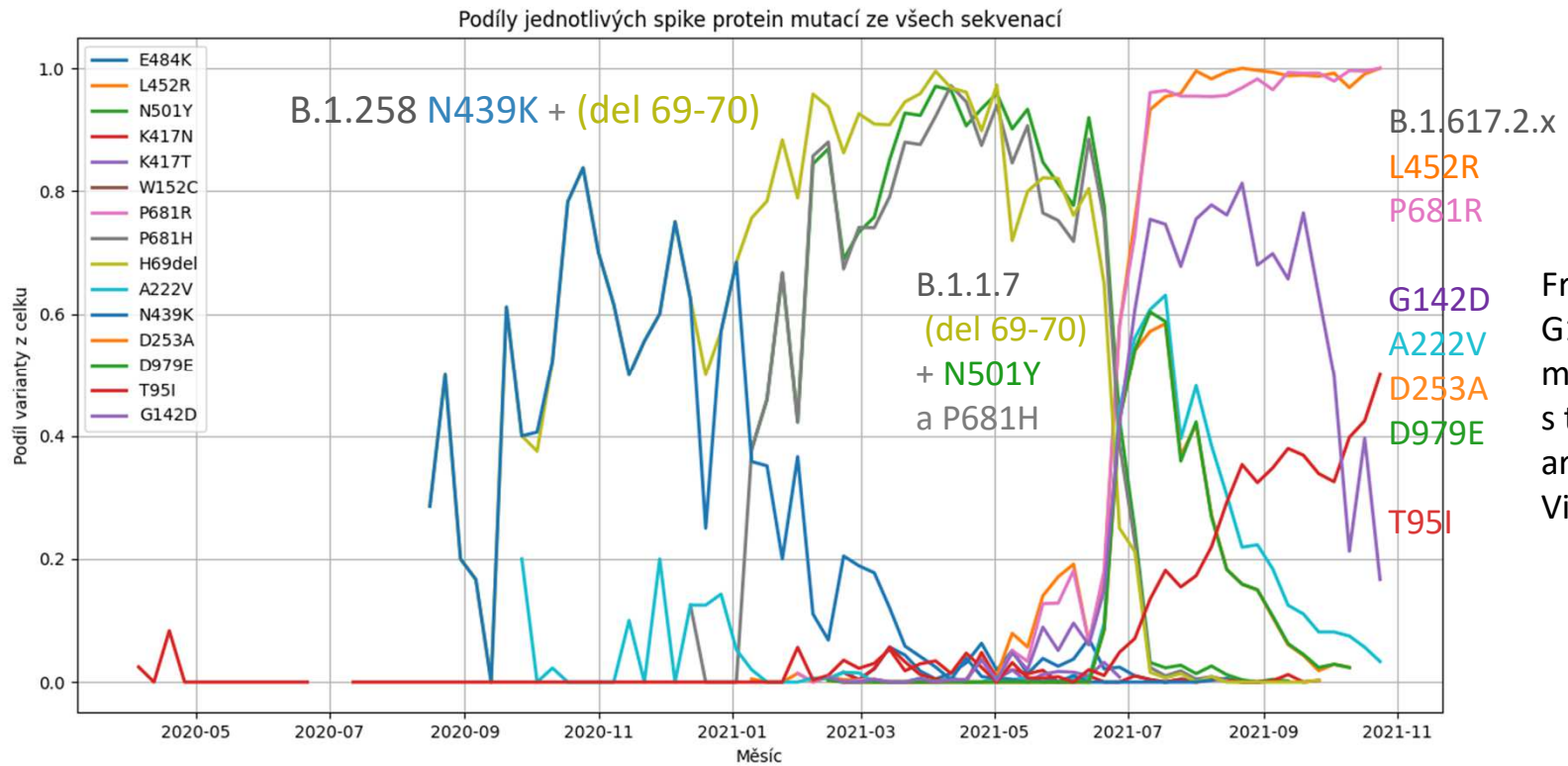
Pozn.: data ze sekvenací jsou k dispozici za cca 1-3 týdny od data odběru.

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



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

Graf č. 5:



Frekvence
G142 a T95I
možná souvisí
s technickým
artefaktem.
Viz další slide.



Frekvence mutací T95I a D152G pravděpodobně souvisí s technickým artefaktem

NRL sleduje frekvence mutací T95I a D152G. 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.

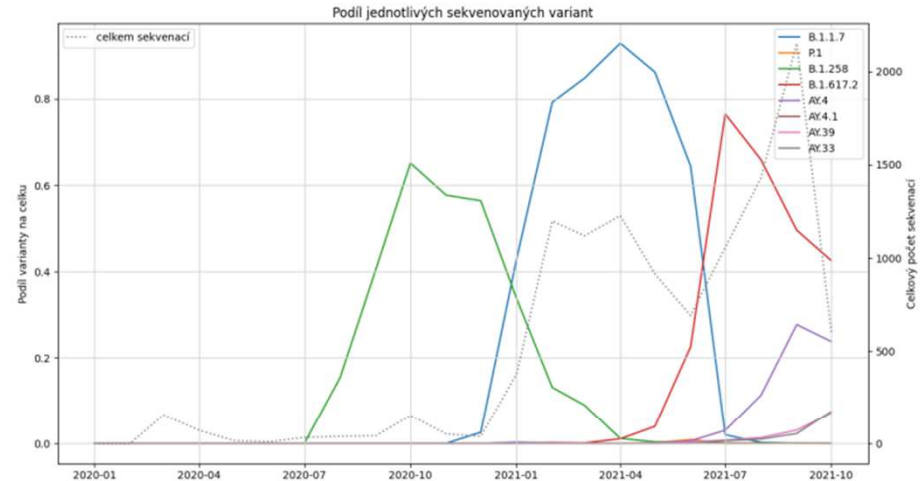
Více zde:

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

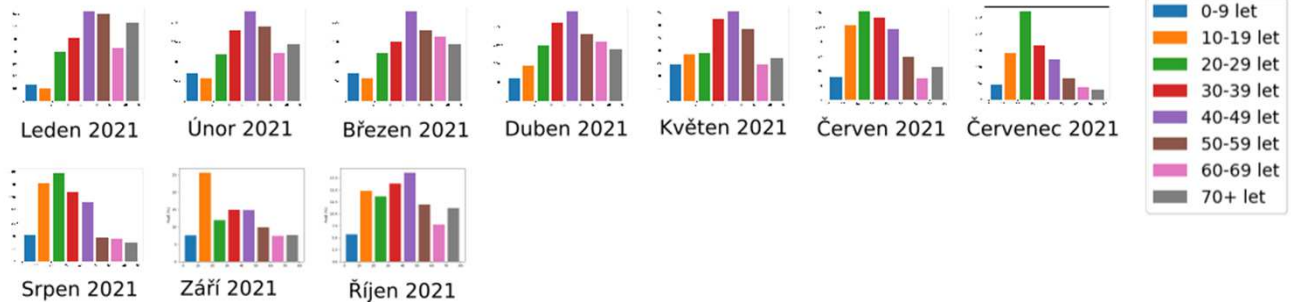
Věková struktura sekvenovaných v kontextu převažujících variant

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, 40 – 49 a 50 – 59 let.



Věková struktura sekvenovaných





Přehled WGS detekovaných variant SARS-CoV-2 mezi 29. 9. a 29. 10. 2021

Tabulka 2:

Varianta	celkem	podíl (%)	Dle WHO
B.1.617.2	327	42,36	Delta
AY.4	198	25,65	Delta+
AY.33	55	7,12	Delta+
AY.39	49	6,35	Delta+
AY.9	36	4,66	Delta+
AY.20	31	4,02	Delta+
AY.34	28	3,63	Delta+
AY.4.4	17	2,2	Delta+
AY.26	11	1,42	Delta+
AY.5	5	0,65	Delta+
AY.7.1	5	0,65	Delta+
AY.4.5	3	0,39	Delta+
AY.4.2	2	0,26	Delta+
AY.23.1	1	0,13	Delta+
AY.36	1	0,13	Delta+
AY.38	1	0,13	Delta+
AY.25	1	0,13	Delta+
AY.4.3	1	0,13	Delta+
Celkem	772	100	



Změna variant zájmu (VOI) dle WHO

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 deescalovány, tedy jsou vyřazeny z VOI/VOC klasifikace, jedná se o varianty alfa, epsilon, kapa, eta, theta, zeta a další.



Závěr

V období od 15. 10. do 29. 10. 2021 má NRL k dispozici data z 34 979 provedených testů diskriminační PCR z celkem 83 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 94,5 % 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 hrají 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 obou povinně sledovaných mutací E484K a L452R.

Za rok 2021 bylo k 29. 10. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 11 379 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. Celkem 772 sekvenací se vztahuje k datu odběru mezi 29. zářím a 29. říjnem.

Podíl původní varianty delta období 29. 9. – 29. 10. je 42,36 %. Dle celogenomové sekvenace zaznamenáváme nárůst subvariant delta varianty - AY.4, AY.33, AY.39, které se šíří i v dalších zemích. Podíl subvarianty AY.4 v tomto období činí 25,65 %, podíl AY.33 činí 7,12 %, podíl AY.39 je 6,35 %. Podíl dalších subvariant AY.x činí méně než pět procent každá. Celkový přehled všech sekvenovaných variant v tomto období ukazuje tabulka 2.

Pozorujeme nárůst varianty AY.4, kde dochází k divergentní evoluci a vzniku nových subvariant. AY.4 je v tuto chvíli dominantní varianta v ČR, přičemž u AY.4.2 probíhá diskuze, zda je nakažlivější než původní varianta delta. V ČR byly zachyceny celogenomovou sekvenací prozatím 2 vzorky této varianty, která se rapidně šíří např. ve Velké Británii.

Kolektiv autorů:

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