SARS-CoV-2 metodický pokyn sledování variant a klíčových mutací viru	22. února 2021 aktual. 18.3.21

Pro funkční molekulární surveillance NRL prosí o spolupráci jednotlivé KHS či vyšetřující laboratoře ve smyslu zajištění pravidelného zasílání vzorků podezřelých na přítomnost mutací k celogenomové sekvenaci a adaptace PCR metodiky tak, aby umožnila detekci klíčových mutací zásadně měnících vlastnosti viru.

PCR detekce mutací/variant a hlášení výsledků

Vzhledem k dostupnosti PCR testů umožňujících detekci mutací je nutno v každé z vyšetřujících laboratoří zajistit detekci klíčových mutací a výsledek hlásit přímo do ISIN, (k 22.2.2021 zajištěna možnost hlásit B.1.1.7 suspekci).
PCR výsledky jsou vždy hlášeny jako suspektní.

Detekce mutace lze provádět v rámci jediné PCR, zajištěné CE/IVD PCR soupravou obsahující:

1. Jeden konzervativní úsek specifický pro SARS-CoV-2 (může být úsek genu E, EndoRNasy, úsek v genu Orf1ab, NRL nedoporučuje úsek v genu N jako jediný ani úsek v genu S jako jediný) Pokud jsou vybrány diagnostika cílící do jediné oblasti v genech S a N, je nutné, aby v pravidelných měsíčních reportech informovali o výsledcích in-silico analýzy.
2. Interní kontrolu (lidský gen nízkou expresní hladinou, nebo jinou RNA – nesmí se jednat o syntetický oligonukleotid) pro kontrolu izolace a PCR reakce
3. Jeden specifický úsek umožňující **detekci**/rozlišení **501Y** (mutaci typickou pro B.1.1.7 – britskou variantu, B,1,351 – JAR variantu, P1 – brazilskou variantu) a A501 (divoký kmen, souprava nemusí divokou variantu detekovat)
4. Jeden specifický úsek umožňující **detekci**/rozlišení **484K** (mutaci typickou pro B,1,351 – JAR variantu, P1 – brazilskou variantu, nalezenou i v B. 1.1.7 – britské variantě a variantách ze skupiny 19B), a E484 (divoký kmen, souprava nemusí divokou variantu detekovat).
5. Případně jakoukoli další mutaci, umožňující bližší identifikaci, a to dle nabídky výrobce a dostupnosti soupravy (např. 417N/T, 452R, 701V).

Je možné detekovat mutace i v následné PCR pouze u dříve pozitivních vzorků.

Za nejdůležitější v současnosti lze považovat 484K a 501Y, případně 417N/T.
NRL bude uveřejňovat aktualizovanou tabulku, která umožní racionální výběr PCR souprava hodnocení výsledků:

⬇ Varianta	Pangolin lineage	417N	417T	L452R	439K	484K	501Y	501T	570D	P681H	A701V	V1176F	del 69,70	del 141 - 14	del 144	F888L
Vlastnosti ➡		trans/escape	trans	esc	esc/trans	esc	trans	trans	?	**trans?**	esc	mortalita	esc	esc	esc	?
Britská	B.1.1.7	-	-	-	-	-/+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-
JAR	B.1.351	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Brazilská	B.1.1.28	-	-	-	-	+	-	-	-	-		-	-	-	-	-
Brazilská/Manaus	P.1	-	+	-	-	+	+	-	-	-		-	-	-	-	-
UK/Nigerie	B.1.525	-	-	-	-	+	-	-	-	-		-	+	-	-	+
Jižní Amerika	B.1.1.526			-		+		-	-	-	+	-		-	-	-
tzv. "česká"	B.1.258	-	-	-	+	-	-	-	-	-		-	+	-	-	-
19B (D614)	A.27	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19B (D614)	A.28	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Kalifornie (+transmisibilita	B.429	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nigerie - no transission	B.1.207	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Brazilská	P.2 (B.1.1.248)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Liverpool	A.23.1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B.1.1.318	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Filipíny	P3	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-

trans - zvýšení transmisibility
esc - únik před tlakem protilátek

RNDr. Helena Jiřincová
NRL pro chřipku a nechřipková virová respirační onemocnění