



# Podrobná zpráva ke dni 10. 12. 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:

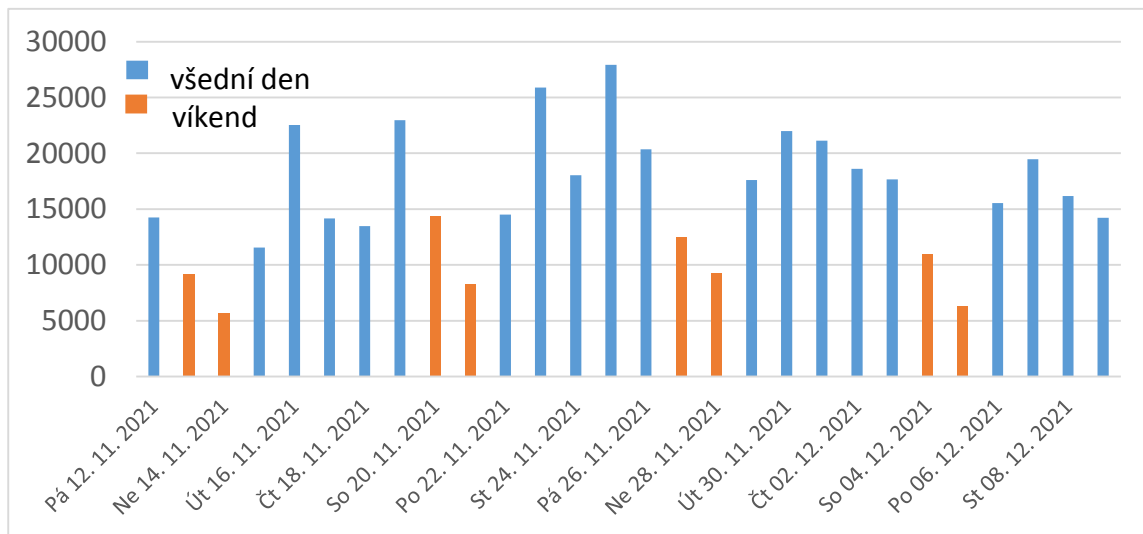
NRL pravidelně analyzuje data a poskytuje MZČR i laboratořím týdenní přehledový dokument, jehož cílem je monitorovat šíření variant SARS-CoV-2, které se na území ČR vyskytují, poskytovat informace o nových potenciálních i reálných rizicích v souvislosti s šířením a evolucí viru SARS-CoV-2, poskytovat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

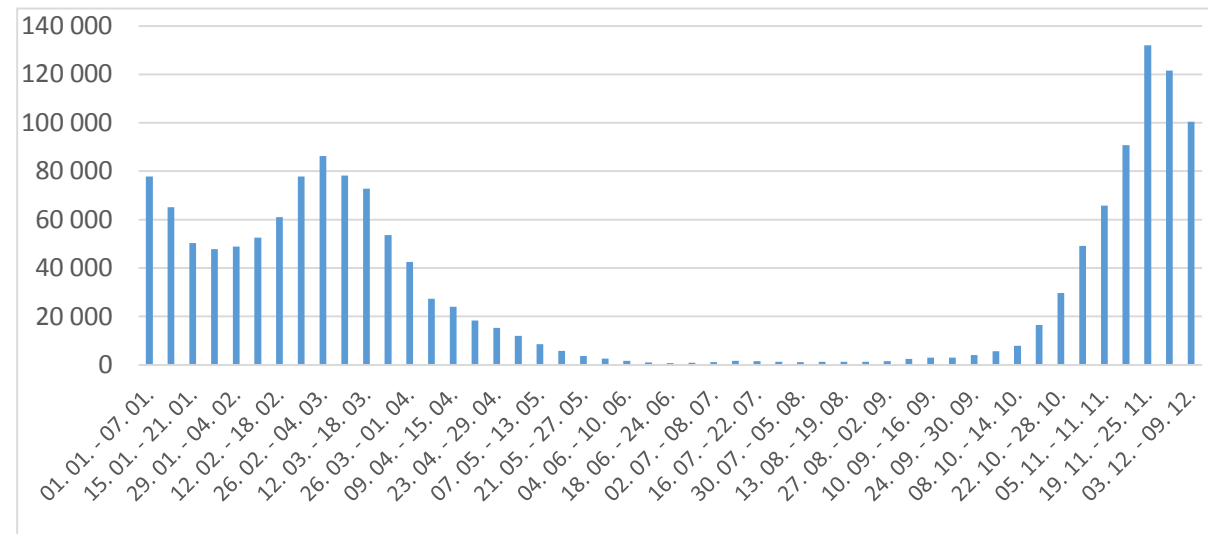
Souhrn a epidemiologický přehled	Strana 2 – 4
Vyhodnocení dat z diskriminační PCR	Strana 5
Odborná doporučení NRL a WHO	Strana 6 – 7
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace	Strana 8 – 15
Závěr	Strana 16

- V období od 2. 12. do 10. 12. 2021 má NRL k dispozici data 41 857 provedených testů diskriminační PCR ze 74 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 98 % pozitivních případů (viz tab. 1).
- Za rok 2021 bylo k 10. 12. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 16 876 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. V této databázi je zveřejněno celkem 673 sekvenací s datem odběru vzorku mezi 10. listopadem a 10. prosincem.
- Omikron – první případ byl potvrzen opakovanou sekvenací, dva susp. případy z Prahy a Středočeského kraje byly naopak vyloučeny. Na potvrzení případů z Jihomoravského kraje čekáme.
- Přehled aktuální epidemiologické situace:  
V ČR bylo za posledních 14 dní (tj. od 26. 11. do 09. 12. 2021) zachyceno 221 933 případů SARS-CoV-2 pozitivních osob, s denním průměrem 15 852,4 případů, což představuje 14denní incidenci 2 073,8 na 100 000 obyvatel. Vývoj počtu případů v delším časovém horizontu zobrazují grafy 1 a 2. Za uvedené období bylo nahlášeno 8 632 hospitalizací. Celkový počet hospitalizací ke konci sledovaného období činí 6 321 osob, z toho 1 000 osob s vážným průběhem. Nejvyšší 7denní incidence covid-19 je aktuálně hlášena v okresech Uherské Hradiště, Žďár nad Sázavou, Šumperk a Vyškov, podrobně uvádí situaci graf 3. Na grafu 3a je vidět aktuální situace v porovnání se stavem před 7 dny, viz graf 3b. Z porovnání je vidět postupné šíření z východu republiky na západ.

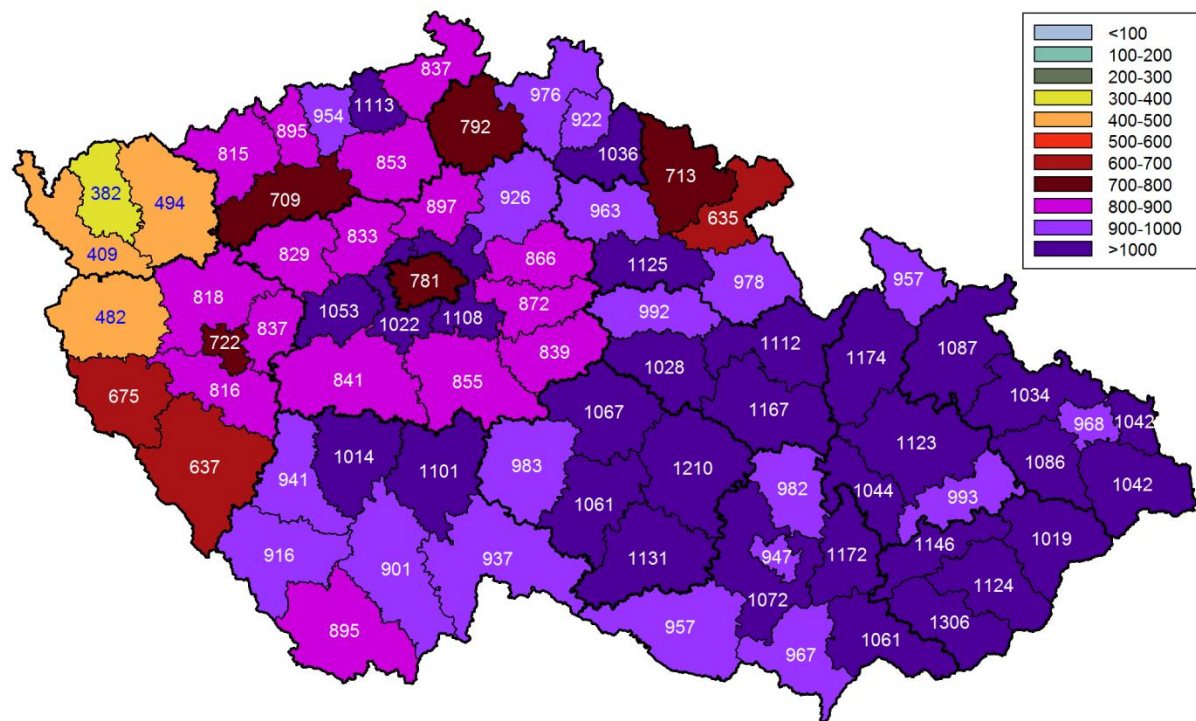
**Graf 1: Počty případů covid-19 za posledních 28 dní**



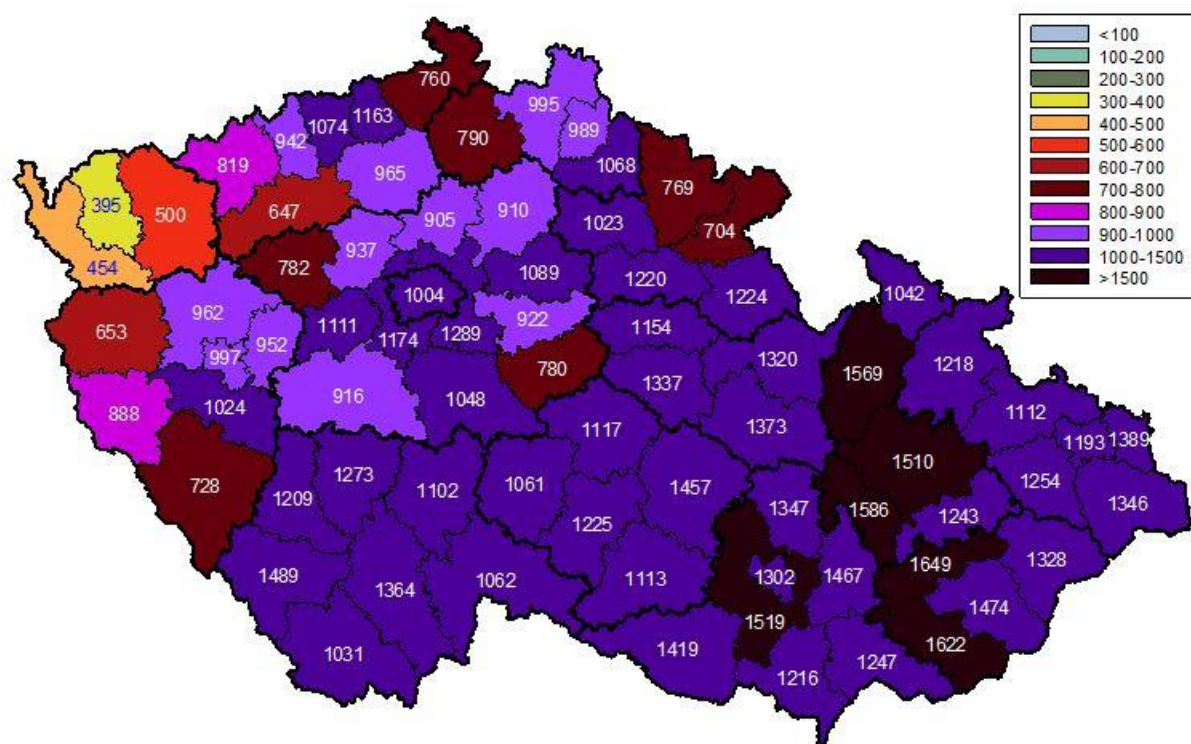
**Graf 2: Týdenní počty případů covid-19 od 1. 1. 2021 do 09. 12. 2021**



**Graf 3a: 7denní incidence na 100 000 obyvatel covid-19 dle okresů ke dni 09. 12. 2021**



**Graf 3b: 7denní incidence na 100 000 obyvatel covid-19 dle okresů ke dni 02. 12. 2021**



V období od 2. 12. do 10. 12. 2021 má NRL k dispozici data 41 857 provedených testů diskriminační PCR ze 74 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 98 % pozitivních případů (viz tab. 1).

**Tabulka 1: Přehled zachycených mutací**

Mutace	Pozitivních	Celkem (vzorků v sadě)	Procento v sadě	Interpretace (pouze susp. varianta)
A570D+	39	12 557	0,31 %	alfa, delta + A570D
E484K+	88	20 557	0,42 %	beta, gama, alfa E484K+, delta+
L452R+	38 878	39 867	97,52 %	delta, delta+
L452R+ a E484K+	76	20 008	0,37 %	delta+
L452R+ a N501Y+	6	1 388	0,43 %	delta+
L452R- a K417+ a N501Y+ a del69_70+	6	114	N/A	Suspektní omikron, všech 6 vzorků vyšetřuje FN Brno a jsou odebrány 6. až 8. prosince

V případě vyslovení podezření na detekci varianty omikron jsme nezávislou datovou analýzou dospěli ke stejnému závěru jako laboratoře provádějící diskriminační PCR. To potvrzuje správnost našeho přístupu k datům z ÚZIS a současně nutnost provádět diskriminační PCR jakožto rychlý nástroj pro detekci nových variant.

## Diskriminační PCR:

Odborná doporučení NRL pro diskriminační PCR SARS-CoV-2 pozitivních vzorků je zmírněna na 10 %, ale v souvislosti s VOC omikron NRL doporučuje v oblastech s potvrzeným komunitním přenosem zvýšit množství takto vyšetřovaných pozitivních vzorků alespoň na 30 %. Na základě stanovení jedné či dvou mutací nelze jednoznačně určit či vyloučit detekci varianty omikron.

- Pro první orientaci je možno vycházet pouze z negativy L452R, v tomto případě je třeba pamatovat, že vzorky vykazující vyšší Ct hodnoty mohou být ve stanovování L452R falešně negativní.
- Pouze negativita delece 69\_70 nemusí znamenat vyloučení varianty omikron, ale může se jednat o subvariantu BA.2. Stále doporučujeme sledovat kombinaci mutací E484K, N501Y, K417N, P681H a Del69\_70.

**Metoda pro přímé stanovení varianty omikron:** <https://zenodo.org/record/5747872#.YazlUtDMIuU>

Vzhledem k velkému počtu mutací možnosti falešných negativit nelze spoléhat pouze na výsledky diskriminačních PCR. Falešně negativní mohou být i PCR diagnostické soupravy cílící do genu N. **Negativní PCR nemusí znamenat vyloučení detekce varianty omikron.** Všechny suspektní případy mohou být vyloučeny pouze na základě confirmace sekvenací, a to u vzorků s hodnotou Ct menší než 30, vzorky s hodnotou Ct 30 až 34 by měly být confirmovány v NRL, ZÚ Ostrava nebo KN Liberec.

**Doporučení ECDC uvádí, že naopak pro detekci postačuje průkaz delece 69-70.**

**U všech suspektních nálezů doporučuje NRL pro confirmaci standard celogenomovou sekvenaci případně parciální sekvenaci.**

**NRL nabízí testujícím laboratořím RNA omikron jako pozitivní kontrolu. Pište na [alena.janypkova@szu.cz](mailto:alena.janypkova@szu.cz).**

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:



Prosím, uvádějte pouze jedinou syntaxi, včetně dodržení typu písma.

**Do jména sekvence uvádět vždy akronym laboratoře:**



Například:

hCoV-19/Czech Republic/**UMTM**239717/2021

hCoV-19/Czech Republic/**CSQ**0217/2021

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

GHC	GHC
BP	Bioptická laboratoř
KNL	Krajská nemocnice Liberec
FNP	Fakultní nemocnice Plzeň
FNHK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
<b>FNO</b>	<b>Fakultní nemocnice Ostrava</b>
CSQ	Fakultní nemocnice Brno



## Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace (WGS):

Za rok 2021 bylo k 10. 12. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 16 876 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. V této databázi je zveřejněno celkem 673 sekvenací s datem odběru vzorku mezi 10. listopadem a 10. prosincem.

Podíl *původní* varianty delta ve výše uvedeném období klesl na 2,67 %. Dle celogenomové sekvenace převažují subvarianty delty - AY.43, AY.122, AY.4. Podíl subvarianty AY.43 v tomto období činí 37,44 %, podíl AY.122 je 20,36 %, podíl AY.4 je 12,04 %, podíl AY.4.2 činí v daném období 2,67 % (celkově bylo v uvedeném období 18 sekvencí AY.4.2). Podíl dalších subvariant vyskytujících se v ČR dle dat z WGS 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. Varianta omikron (BA.1) byla potvrzena WGS prozatím v dvou případech, ale v databázi GISAID je zatím jen jeden.

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



**Tabulka 2:**

Varianta	Celkem	Podíl	Dle WHO
AY.43	252	37,44 %	Delta+
AY.122	137	20,36 %	Delta+
AY.4	81	12,04 %	Delta+
AY.113	28	4,16 %	Delta+
AY.4.2	18	2,67 %	Delta+
B.1.617.2	18	2,67 %	Delta
AY.20.1	15	2,23 %	Delta+
AY.121	15	2,23 %	Delta+
AY.39	14	2,08 %	Delta+
AY.4.4	12	1,78 %	Delta+
AY.7.1	11	1,63 %	Delta+
AY.98.1	9	1,34 %	Delta+
AY.36	8	1,19 %	Delta+
AY.102	6	0,89 %	Delta+
AY.46	6	0,89 %	Delta+
AY.124	6	0,89 %	Delta+
AY.84	6	0,89 %	Delta+
AY.116	5	0,74 %	Delta+
AY.122.1	5	0,74 %	Delta+
AY.125	3	0,45 %	Delta+
AY.42	3	0,45 %	Delta+
AY.119	2	0,30 %	Delta+
AY.5	1	0,15 %	Delta+
AY.98	1	0,15 %	Delta+
AZ.5	1	0,15 %	Delta+
AY.100	1	0,15 %	Delta+
AY.106	1	0,15 %	Delta+
AY.114	1	0,15 %	Delta+
AY.26	1	0,15 %	Delta+
AY.101	1	0,15 %	Delta+
AY.34	1	0,15 %	Delta+
AY.46.5	1	0,15 %	Delta+
AY.87	1	0,15 %	Delta+
B.1.1.529 (BA.1)	2	0,15 %	Omikron
AY.123	1	0,15 %	Delta+
<b>Celkem</b>	<b>673</b>	<b>100 %</b>	

**Tabulka 3:** Přehled sekvencí vložených do databáze GISAID za rok 2021 za jednotlivá sekvenační centra:

Kód	Název pracoviště	Počet
<b>UMTM</b>	Olomouc - Ústav molekulární a translační medicíny	1228
<b>UKDD</b>	Drážďany - Technická univerzita	1242
<b>NRL</b>	Praha - SZÚ	6048
<b>IMG</b>	Praha - Ústav molekulární genetiky AV ČR	328
<b>CSQ</b>	Brno - FNB - CMBGT	2998
<b>BC</b>	České Budějovice - Biologické centrum	277
<b>SVUPHA</b>	Praha - Státní veterinární ústav	395
<b>FNHK</b>	Hradec Králové - FNHK	765
<b>FNO</b>	Ostrava - Fakultní nemocnice Ostrava	330
<b>FNP</b>	Plzeň - Fakultní nemocnice	635

## Spike mutace:

A67V, **Δ69-70**, T95I, G142D/Δ143-145, Δ211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, **K417N**, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493K, G496S, Q498R, **N501Y**, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, **P681H**, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, L981F

## Non-spike mutace:

NSP3 gen: K38R, V1069I, Δ1265/L1266I, A1892T;

NSP4 gen: T492I;

NSP5 – P132H;

NSP6 – Δ105-107, A189V;

NSP12 – P323L;

NSP14 gen: I42V; E – T9I;

M gen: D3G, Q19E, A63T;

N gen: P13L, Δ31-33, R203K, G204R

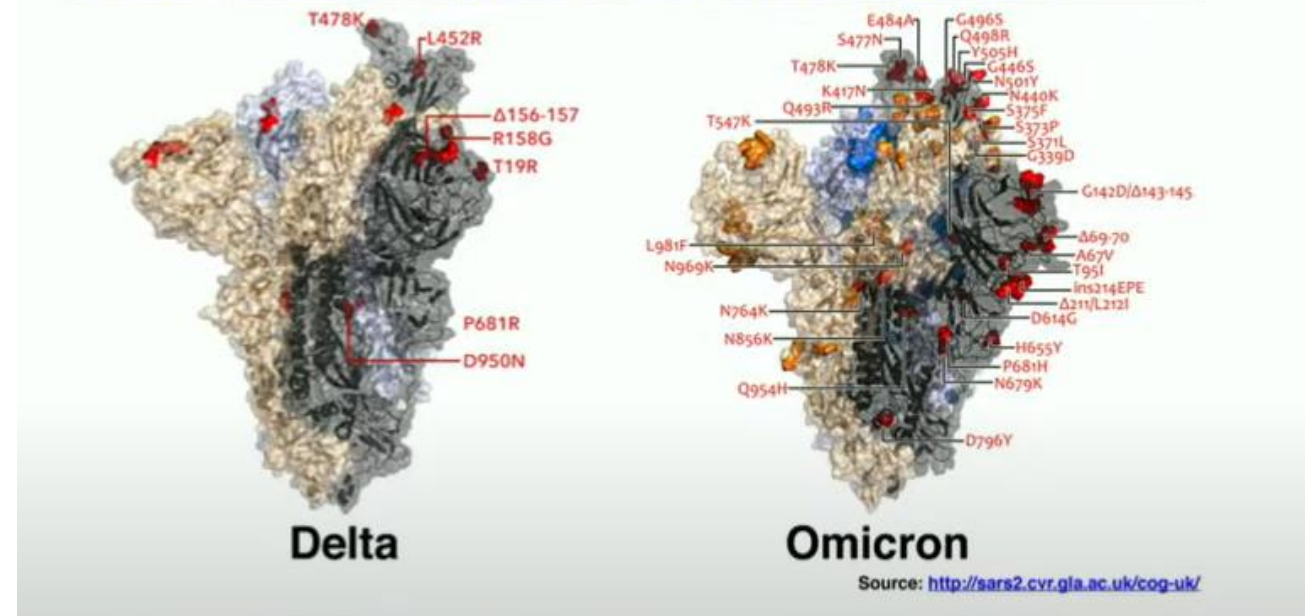
Mutace, které je možné detekovat diskriminační PCR:

**Δ69-70, K417N, N501Y, P681H,**

Mutace typické pro více nebo jednu VOC/VOI:

**Δ69-70, T95I, G142D, Δ143-145, K417N, S477N, T478K, E484A, Q493K, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, L981F**

## SARS-CoV-2 Spike Protein Mutations



vizualizace: <https://twitter.com/i/status/1466490437187690496>

Poslední výzkum ukazuje, že existují v rámci varianty omikron dvě „sourozenecké varianty“ (sibling lineage).

Varianta BA.1 je charakterizovaná delecí 69\_70 ve spike proteinu.

Více zde:

[Proposal to split B.1.1.529 to incorporate a newly characterised sibling lineage · Issue #361 · cov-lineages/pango-designation · GitHub](#)

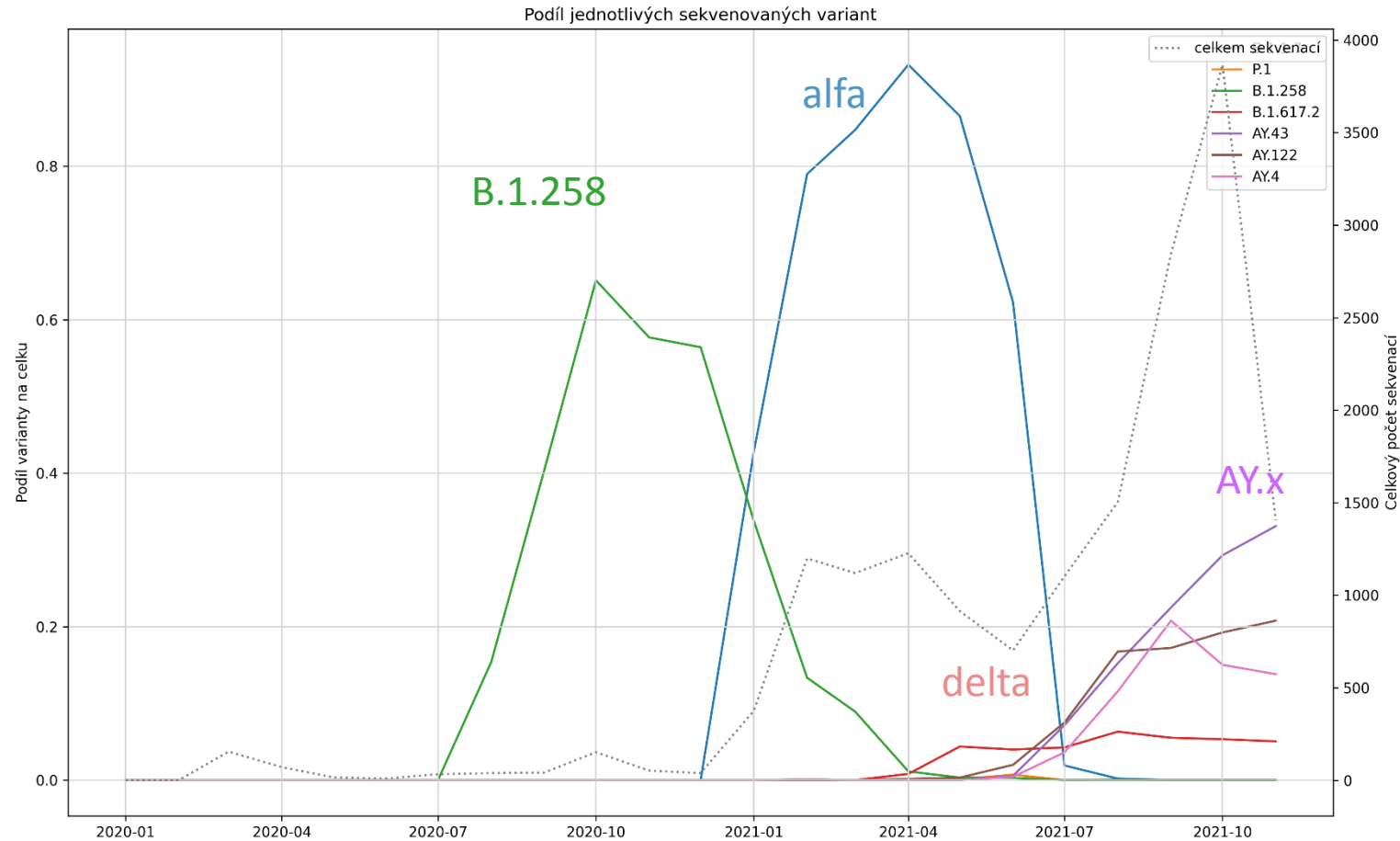
mutace:	Gen:	mutace:	BA.1, BA.2, B.1.1.529
C21618T	S	T19I	Y
21633_21641del	S	LPPA24S	Y
C21762T	S	A67V	Y
21765_21770del	S	HV69del	Y
C21846T	S	T95I	Y
G21987A (outlier); 21987_21995 (ma	S	G142D	Y
21987_21995	S	VYY143del	Y
22194_22196del	S	NL211I	Y
T22200G	S	V213G	Y
22205GAGCCAGAAins	S	215EPEins	Y
G22578A	S	G339D	Y
C22674T	S	S371F	Y
T22673C, C22674T	S	S371L	Y
T22679C	S	S373P	Y
C22686T	S	S375F	Y
A22688G	S	T376A	Y
G22775A	S	D405N	Y
A22786T	S	R408S	Y
G22813T	S	K417N	Y
T22882G	S	N440K	Y
G22898A	S	G446S	Y
G22992A	S	S477N	Y
C22995A	S	T478K	Y
A23013C	S	E484A	Y
A23040G	S	Q493R	Y
G23048A	S	G496S	Y
A23055G	S	Q498R	Y
A23063T	S	N501Y	Y
T23075C	S	Y505H	Y
C23202A	S	T547K	Y
A23403G	S	D614G	Y
C23525T	S	H655Y	Y
T23599G	S	N679K	Y
C23604A	S	P681H	Y
C23854A	S	N764K	Y
G23948T	S	D796Y	Y
C24130A	S	N856K	Y
A24424T	S	Q954H	Y
T24469A	S	N969K	Y
C24503T	S	L981F	Y

Výzkum demonstruje čtyři analytické soupravy pro spolehlivou prvoliniovou detekci varianty omikron.

<https://europepmc.org/article/PPR/PPR429507>

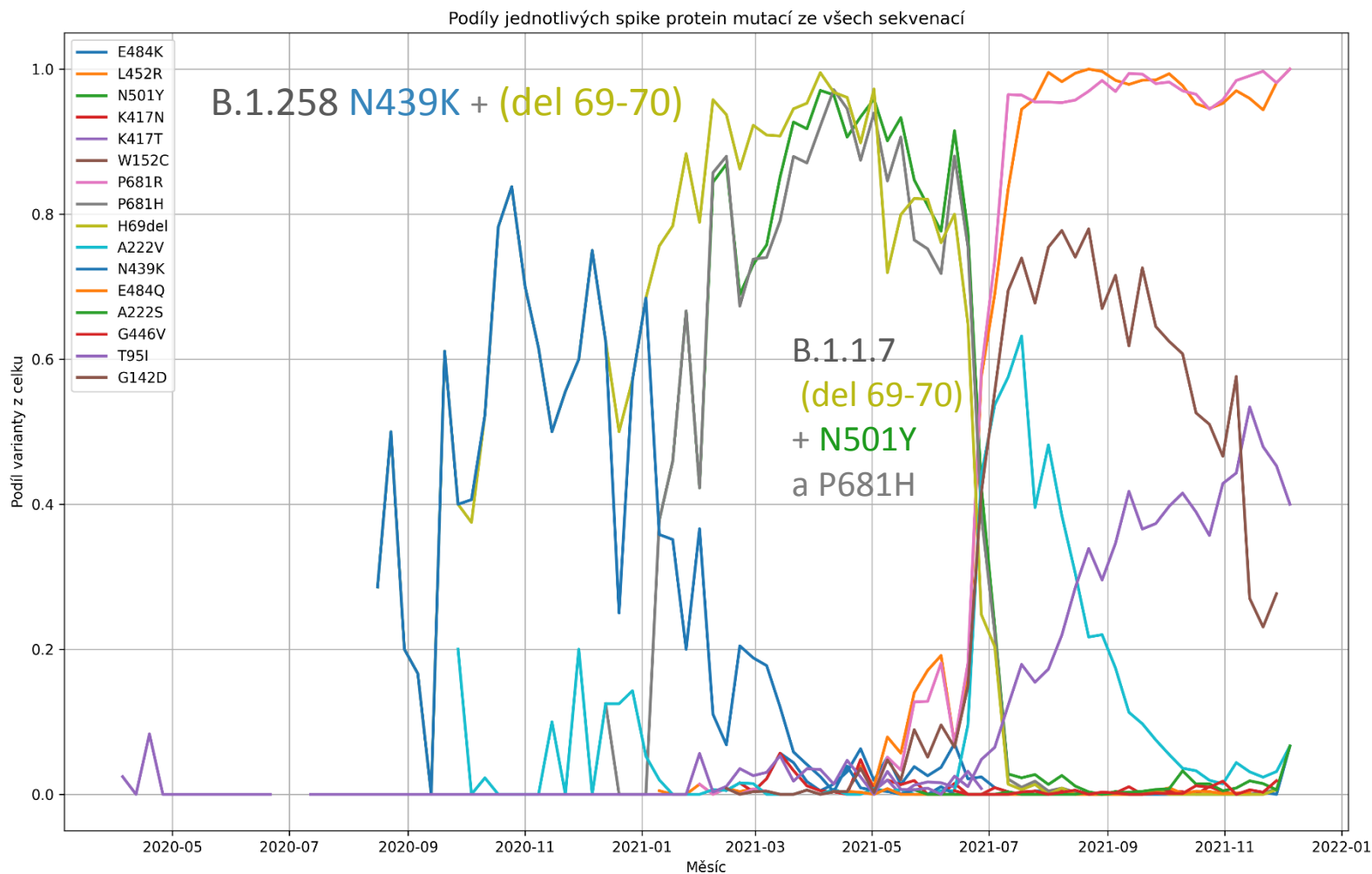
<https://www.medrxiv.org/content/medrxiv/early/2021/12/08/2021.12.07.21267293.full.pdf>

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



**Graf č. 5:**

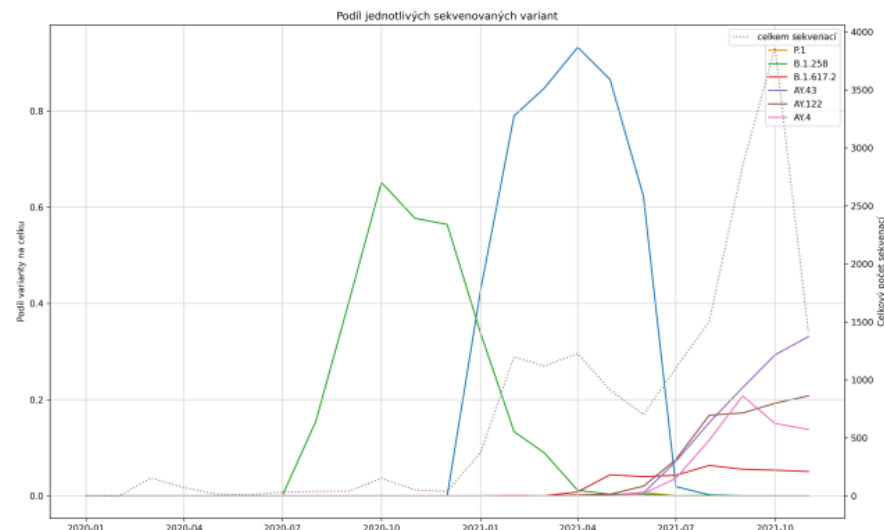
Frekvence  
G142D a T95I  
zřejmě souvisí  
s vyhodnocením  
sekvenačních  
dat.



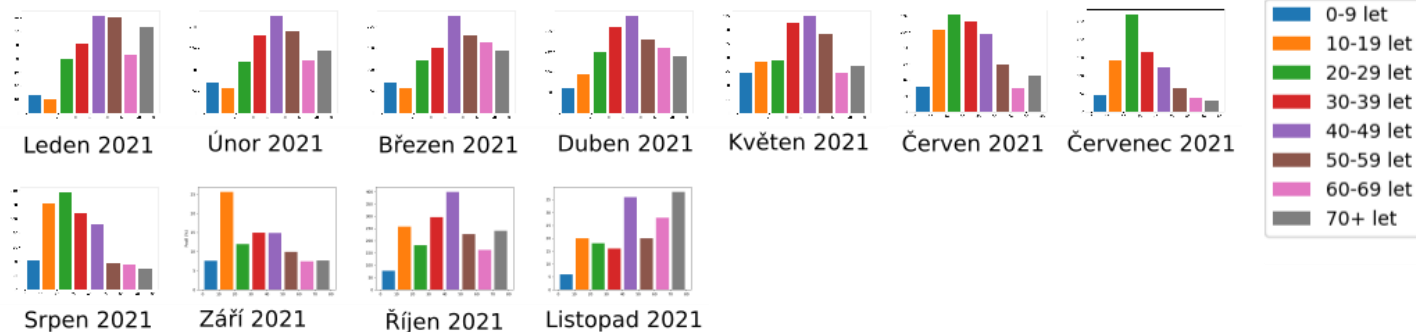
# Věková struktura sekvenovaných v kontextu převažujících variant

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. V listopadu pak zaznamenáváme nárůst mezi nejvyššími věkovými skupinami. Tento jev neodpovídá věkové distribuci v případě sledování positivity PCR testů, ale je definice vzorků určených k sekvenaci a tedy algoritmu ÚZIS použitého k vyhodnocení.



Věková struktura sekvenovaných





- V období od 2. 12. do 10. 12. 2021 má NRL k dispozici data 41 857 provedených testů diskriminační PCR ze 74 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 98 % pozitivních případů (viz tab. 1).
- Za rok 2021 bylo k 10. 12. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 16 876 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. V této databázi je zveřejněno celkem 673 sekvenací s datem odběru vzorku mezi 10. listopadem a 10. prosincem.
- Podíl *původní* varianty delta ve výše uvedeném období klesl na 2,67 %. Dle celogenomové sekvenace převažují subvarianty delty - AY.43, AY.122, AY.4. Podíl subvarianty AY.43 v tomto období činí 37,44 %, podíl AY.122 je 20,36 %, podíl AY.4 je 12,04 %, podíl AY.4.2 činí v daném období 2,67 % (celkově bylo v uvedeném období 18 sekvencí AY.4.2).
- Omikron – první případ byl potvrzen opakovanou sekvenací, dva susp. případy z Prahy a Středočeského kraje byly naopak vyloučeny. Na potvrzení případů z Jihomoravského kraje čekáme. Varianta omikron se přenáší pravděpodobně s vyšší účinností, ale klinický dopad zatím nelze odhadnout vzhledem k malému počtu doposud infikovaných osob. Vzhledem k velkému počtu mutací a možnosti falešných negativit nelze spoléhat pouze na výsledky diskriminačních PCR. Negativní diskriminační PCR nemusí znamenat vyloučení detekce varianty omikron. Všechny suspektní případy mohou být vyloučeny pouze na základě sekvenace. Konfirmační pracoviště pro diskriminační PCR jsou NRL, ZÚ Ostrava, ZÚ Ústí nad Labem nebo Krajské Nemocnici Liberec.
- K 10. 12. 2021 je potvrzeno 1 555 případů této varianty celogenomovou sekvenací, z toho 525 záchytů pochází z JAR, ale např. Velká Británie hlásí 450 záchytů.

Kolektiv autorů:

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