



Podrobná zpráva ke dni 17. 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, SZU

Úvod:

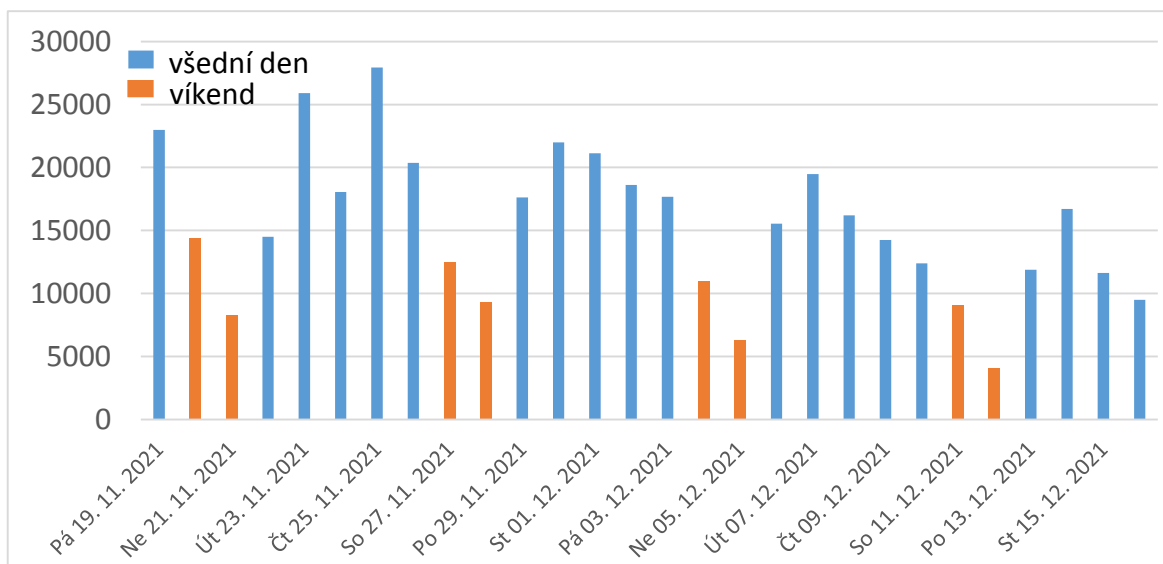
NRL pravidelně analyzuje data a poskytuje MZČR i laboratořím týdenní přehledový dokument, jehož cílem je monitorovat šíření variant SARS-CoV-2, které se na území ČR vyskytují, poskytovat informace o nových potenciálních i reálných rizicích v souvislosti s šířením a evolucí viru SARS-CoV-2, poskytovat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

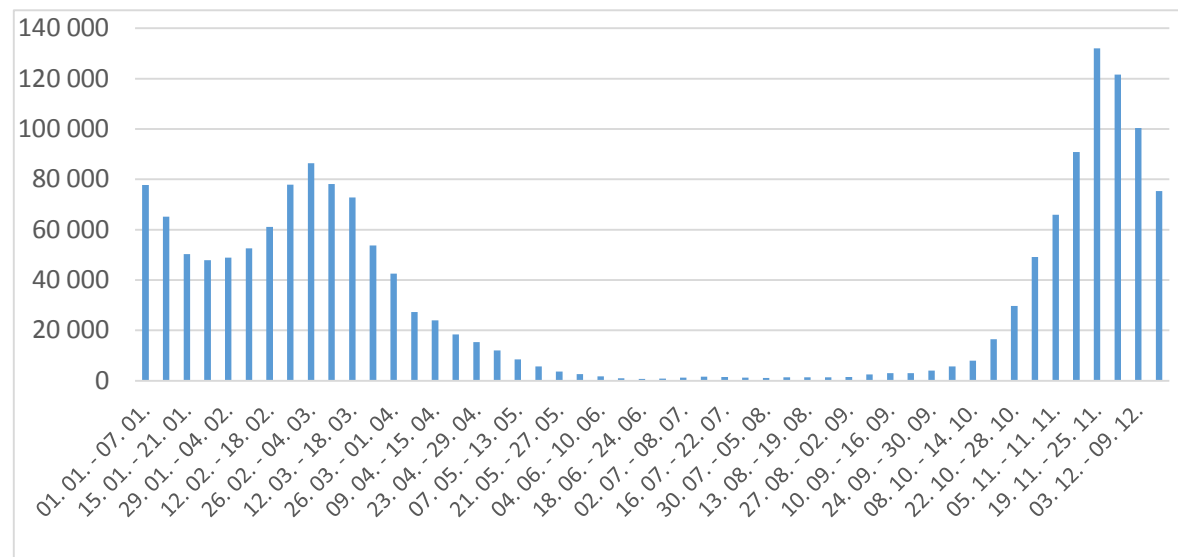
Souhrn a epidemiologický přehled	Strana 2 – 5
Vyhodnocení dat z diskriminační PCR	Strana 6
Odborná doporučení NRL a WHO	Strana 7 – 8
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace	Strana 9 – 17
Závěr	Strana 18

- V období od 9. 12. do 17. 12. 2021 má NRL k dispozici data 31 772 provedených testů diskriminační PCR ze 76 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 98 % pozitivních případů (viz tab. 1).
- Za rok 2021 bylo k 17. 12. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 17 125 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. V této databázi je zveřejněno celkem 984 sekvenací s datem odběru vzorku mezi 17. listopadem a 17. prosincem.
- Omikron – šest případů potvrzeno celogenomovou sekvenací. 2 pochází z Libereckého a 4 z Jihomoravského kraje.
- Přehled aktuální epidemiologické situace:
V ČR bylo za posledních 14 dní (tj. od 03. 12. do 16. 12. 2021) zachyceno 175 712 případů SARS-CoV-2 pozitivních osob, s denním průměrem 12 550,9 případů, což představuje 14denní incidenci 1 641,9 na 100 000 obyvatel. Vývoj počtu případů v delším časovém horizontu zobrazují grafy 1 a 2. Za uvedené období bylo nahlášeno 7 363 hospitalizací. Celkový počet hospitalizací ke konci sledovaného období činí 5 431 osob, z toho 885 osob s vážným průběhem. Nejvyšší 7denní incidence covid-19 je aktuálně hlášena v okresech Pelhřimov, Ústí nad Labem, Svitavy a Mělník, 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.
- V ČR bylo za posledních 14 dní (tj. od 03. 12. do 16. 12. 2021) provedeno celkem 1 376 532 testů na covid-19, z toho 1 082 728 PCR a 293 804 antigenních testů (graf č.4); pozitivitu PCR testů ze všech provedených PCR testů na covid-19 zobrazuje graf č.5.

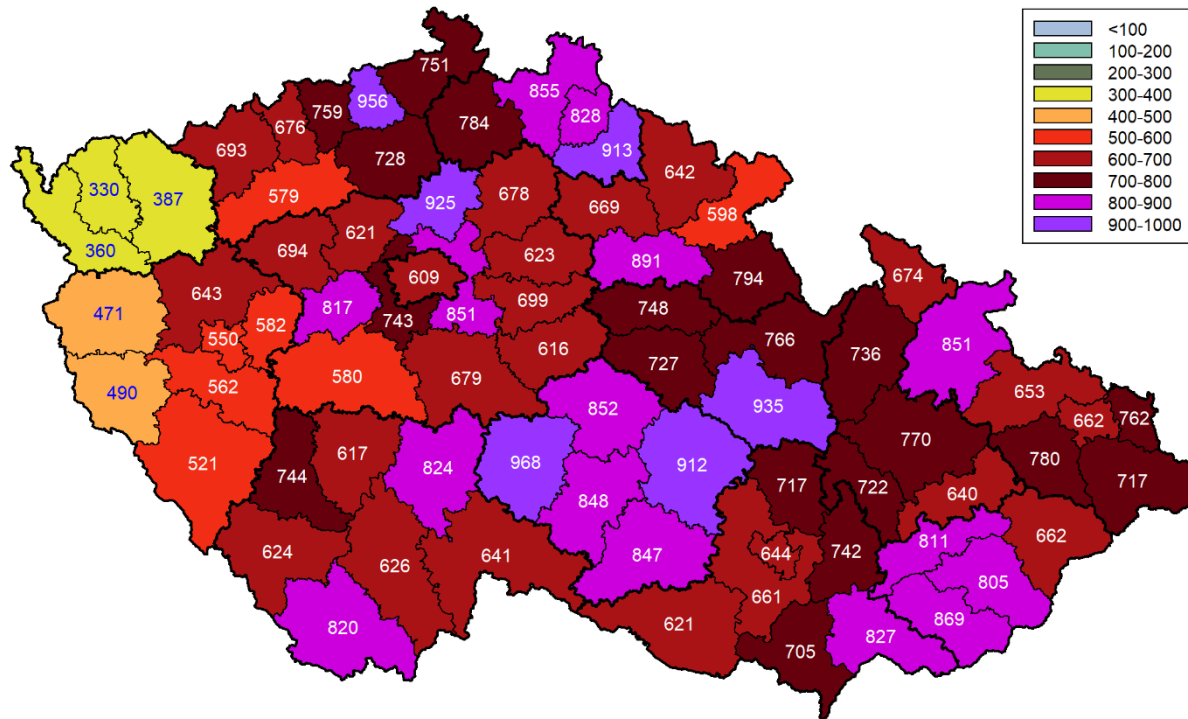
Graf 1: Počty případů covid-19 za posledních 28 dní



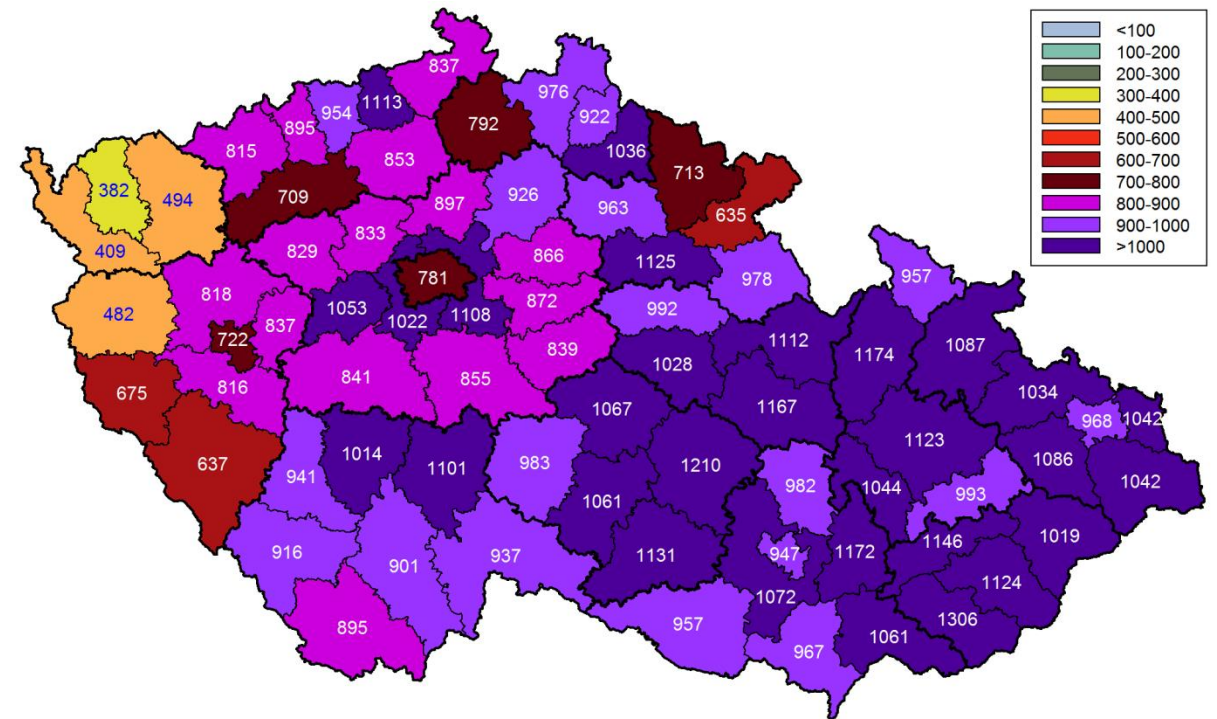
Graf 2: Týdenní počty případů covid-19 od 1. 1. 2021 do 16. 12. 2021



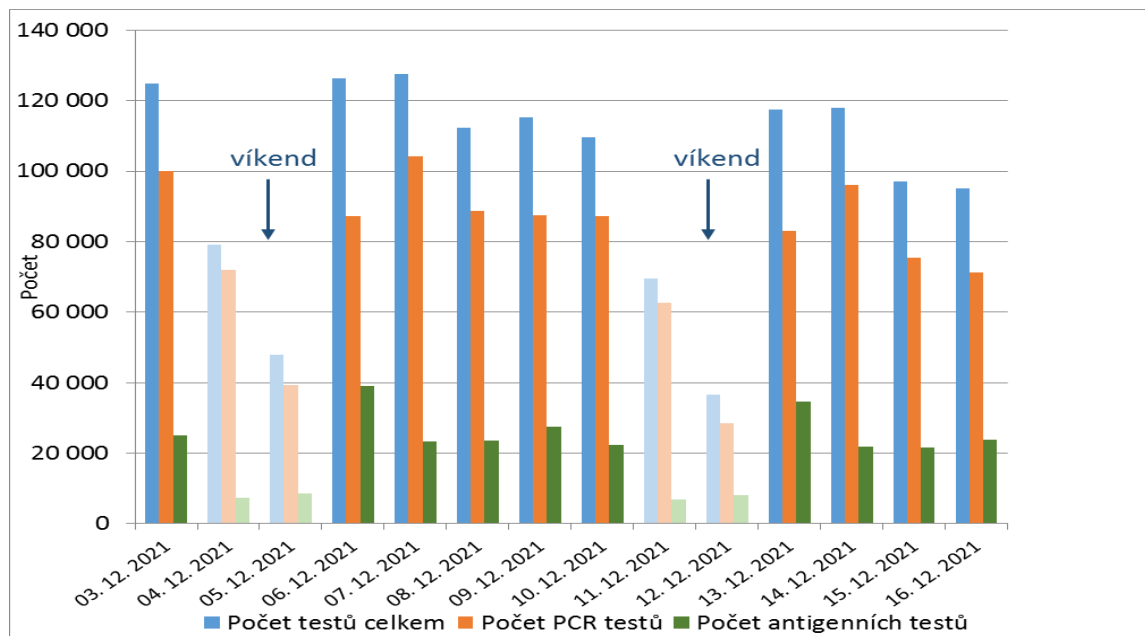
Graf 3a: 7denní incidence na 100 000 obyvatel covid-19 dle okresů ke dni 16. 12. 2021



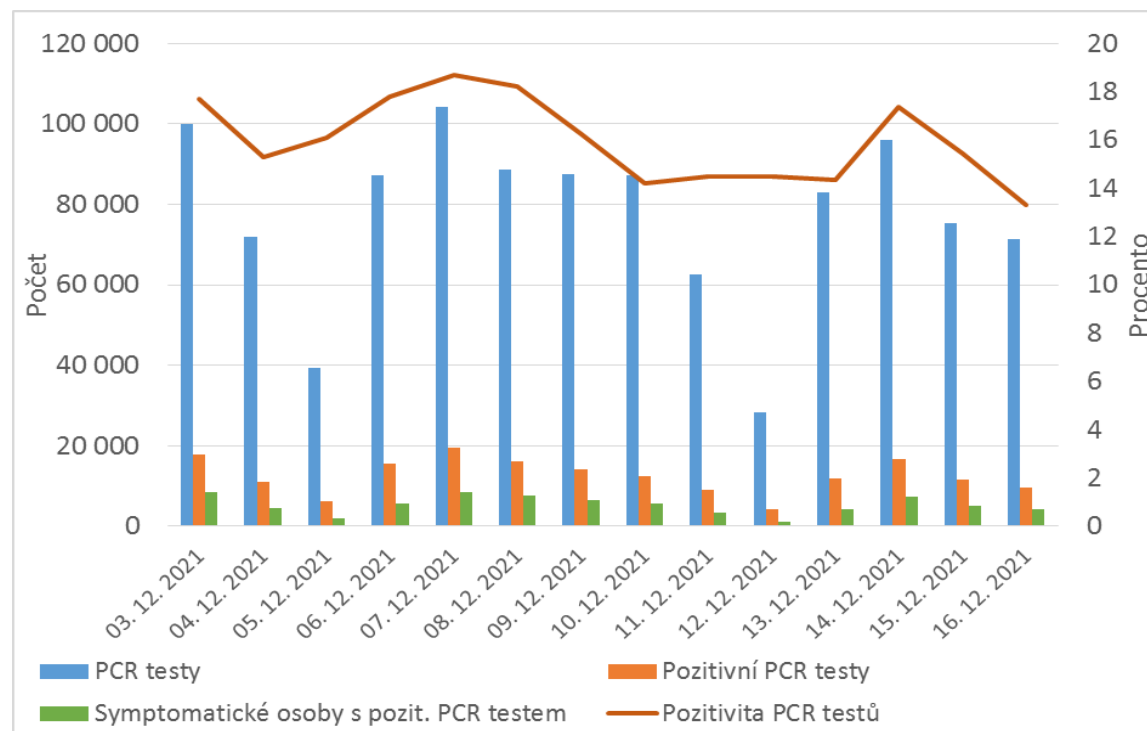
Graf 3b: 7denní incidence na 100 000 obyvatel covid-19 dle okresů ke dni 09. 12. 2021



Graf 4: Počty provedených testů na covid-19 za období posledních 14 dní



Graf 5: Počty provedených PCR testů na covid-19 a jejich pozitivita za období posledních 14 dní



V období od 9. 12. do 17. 12. 2021 má NRL k dispozici data 31 772 provedených testů diskriminační PCR ze 76 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+	23	8 936	0,26 %	alfa, delta + A570D
E484K+	47	15 481	0,30 %	beta, gama, alfa E484K+, delta+
L452R+	29 530	30 315	97,41 %	delta, delta+
L452R+ a E484K+	36	15 118	0,24 %	delta+
L452R+ a N501Y+	12	1 145	1,05 %	delta+
L452R- a K417+ a N501Y+ a del69_70+	5	122	N/A	Suspektní omikron, 3 vzorky laboratoř Brno, 1 Zlín, 1 Ostrava

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.**
- **suspektní omikron doporučujeme určovat na základě negativy L452R a jednou z těchto pozitivních mutací: N501Y, P681H, Del69_70, K417N nebo S371L pozitivní S373P, pozitivní, E484A pozitivní.**

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

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. 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.

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.

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	Biopstická 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 (WGS):

Za rok 2021 bylo k 17. 12. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 17 125 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. V této databázi je zveřejněno celkem 984 sekvenací s datem odběru vzorku mezi 17. listopadem a 17. prosincem.

Dle celogenomové sekvenace převažují subvarianty delty - AY.43, AY.122, AY.4. Podíl subvarianty AY.43 v tomto období činí 26,83 %, podíl AY.4 je 25,51 %, podíl AY.122 je 17,78 %. 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 (B.1.1.529) byla potvrzena WGS v ČR prozatím v šesti případech – dva na Liberecku a čtyři v Jihomoravském kraji.

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

Tabulka 2:

Varianta	celkem	podíl	Dle WHO
AY.43	264	26,83 %	Delta+
AY.4	251	25,51 %	Delta+
AY.122	175	17,78 %	Delta+
AY.121	35	3,56 %	Delta+
AY.113	30	3,05 %	Delta+
AY.126	28	2,85 %	Delta+
AY.7.1	21	2,13 %	Delta+
AY.4.2.3	16	1,63 %	Delta+
AY.20.1	14	1,42 %	Delta+
AY.127	13	1,32 %	Delta+
AY.98.1	12	1,22 %	Delta+
B.1.617.2	12	1,22 %	Delta
AY.36	11	1,12 %	Delta+
AY.102	11	1,12 %	Delta+
AY.116	10	1,02 %	Delta+
AY.4.4	10	1,02 %	Delta+
AY.84	8	0,81 %	Delta+
AY.46	8	0,81 %	Delta+
BA.1	6	0,61 %	Omikron
AY.124	5	0,51 %	Delta+
AY.4.6	4	0,41 %	Delta+
AY.1	4	0,41 %	Delta+
AY.117	4	0,41 %	Delta+
AY.92	3	0,30 %	Delta+
AY.9.2	3	0,30 %	Delta+
AY.46.6	3	0,30 %	Delta+
AY.123	2	0,20 %	Delta+
AY.41	2	0,20 %	Delta+
AY.42	2	0,20 %	Delta+
AY.4.5	2	0,20 %	Delta+
AY.125	2	0,20 %	Delta+
AY.98	2	0,20 %	Delta+
AY.119	2	0,20 %	Delta+
AY.4.2	2	0,20 %	Delta+
AY.44	1	0,10 %	Delta+
AY.34	1	0,10 %	Delta+
AY.39	1	0,10 %	Delta+
AY.46.5	1	0,10 %	Delta+
AY.33	1	0,10 %	Delta+
AY.121.1	1	0,10 %	Delta+
AY.106	1	0,10 %	Delta+
Celkem	984	100	

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

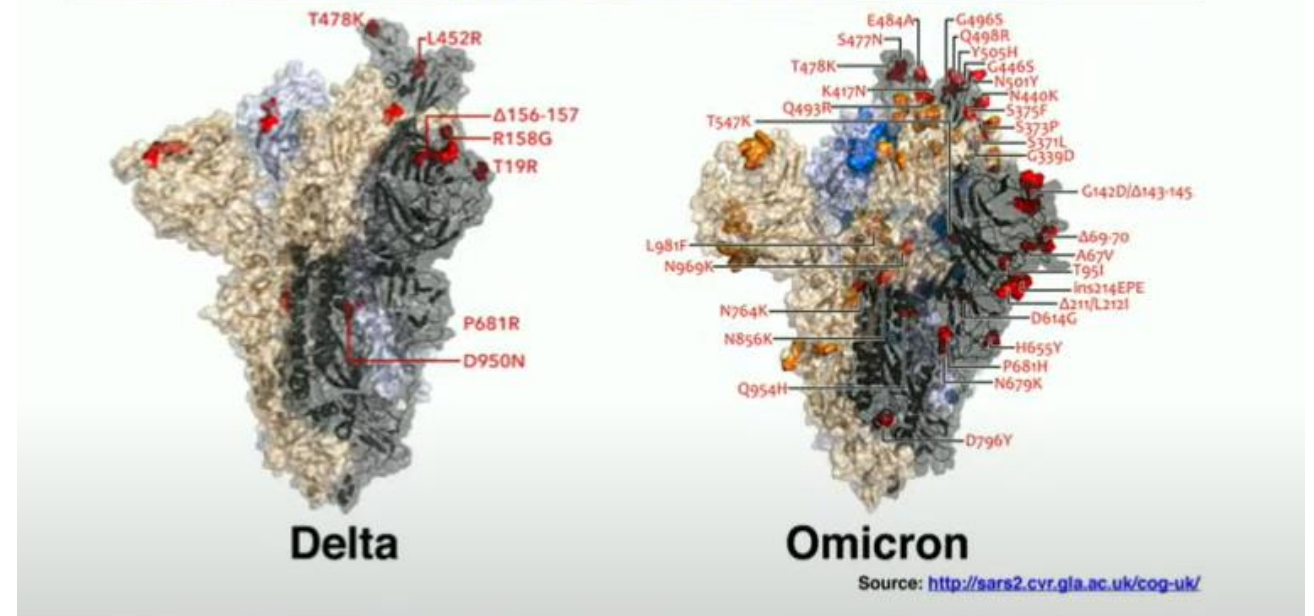
Mutace, které je možné detekovat diskriminační PCR:

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.

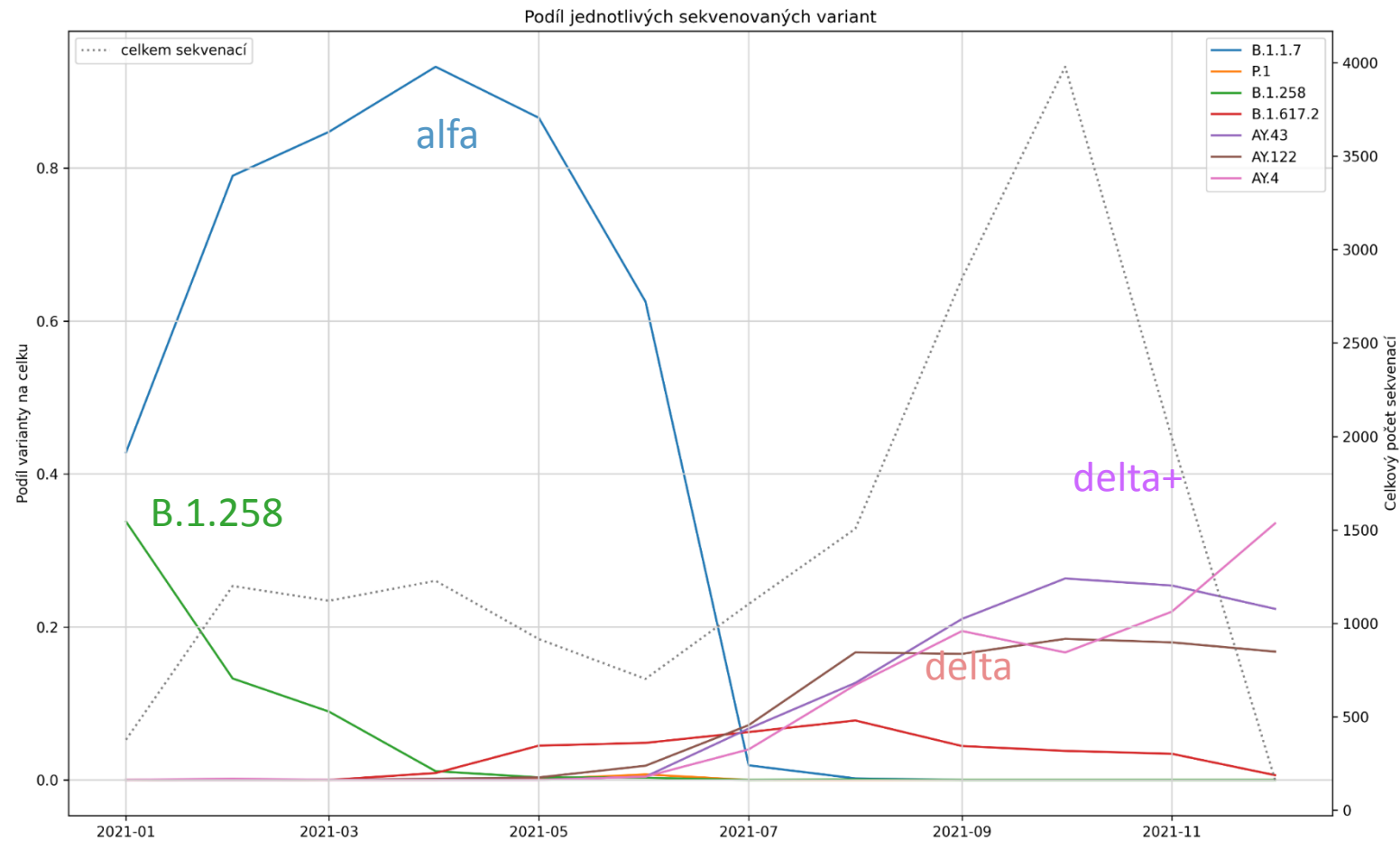
<https://europepmc.org/article/PPR/PPR429507>

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

Projekt COVd ukazuje linie viru SARS-CoV-2 v přehledném grafu:

<https://virus.img.cas.cz/lineages>

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



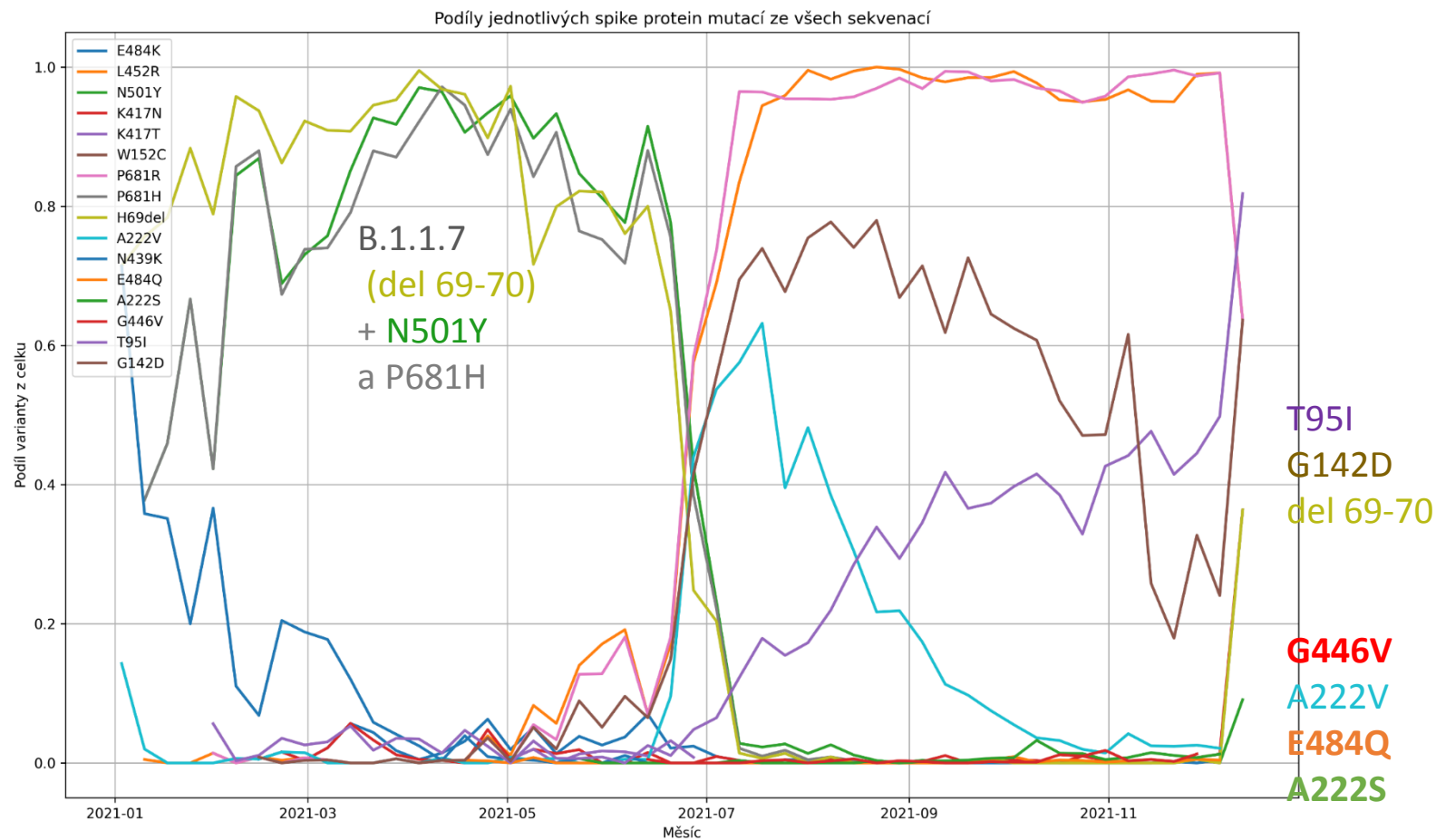
Graf č. 5:

Frekvence
G142D a T95I
zřejmě souvisí
s vyhodnocením
sekvenačních
dat.

B.1.617.2.x

L452R

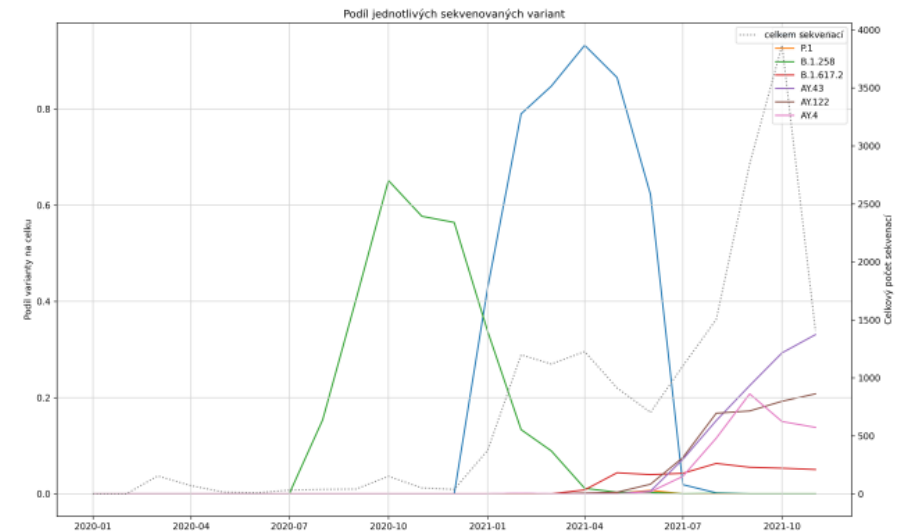
P681R



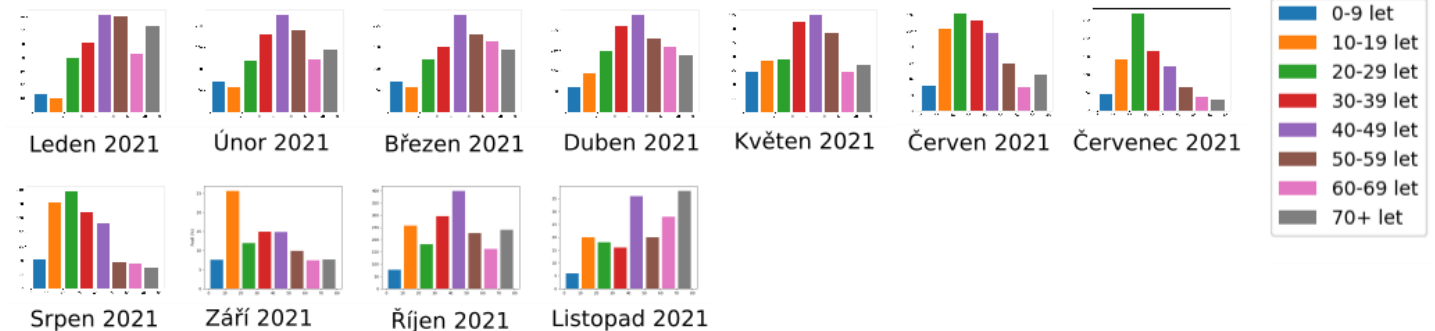
Věková struktura sekvenovaných v kontextu převažujících variant

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 9. 12. do 17. 12. 2021 má NRL k dispozici data 31 772 provedených testů diskriminační PCR ze 76 laboratoří. Na variantu delta (včetně subvariant AY.x) připadá dle diskriminační PCR přibližně 98 % pozitivních případů (viz tab. 1).
- Za rok 2021 bylo k 17. 12. 2021 v ČR celogenomově sekvenováno 17 125 SARS-CoV-2 pozitivních vzorků, zdrojem jsou interní data NRL a mezinárodní platforma GISAID. V této databázi je zveřejněno celkem 984 sekvenací s datem odběru vzorku mezi 17. listopadem a 17. prosincem.
- Dle celogenomové sekvenace převažují subvarianty delty - AY.43, AY.122, AY.4. Podíl subvarianty AY.43 v tomto období činí 26,83 %, podíl AY.4 je 25,51 %, podíl AY.122 je 17,78%. 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.
- Omikron –6 případů potvrzeno celogenomovou sekvenací v ČR - 2 z Libereckého a 4 z Jihomoravského kraje. 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 Krajská Nemocnice Liberec.
- K 17. 12. 2021 je potvrzeno 7 697 případů této varianty celogenomovou sekvenací (zhruba 500% nárůst oproti minulému týdnu), z toho 1 247 záchytů pochází z JAR, 5 243 pochází z Evropy (z toho 4 116 z Velké Británie), varianta vznikla pravděpodobně v JAR, první záchyt sekvenací byl v Hongkongu. V současnosti se varianta již rozšířila minimálně do 57 zemí (WHO).

Kolektiv autorů:

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