



Podrobná měsíční zpráva ke dni 1.8.2021

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	Strana 2
Vyhodnocení dat z diskriminační PCR	Strana 3
Odborná doporučení NRL	Strana 4 - 6
Vyhodnocení dat z celogenomové sekvenace	Strana 7 - 14
Závěr	Strana 15
Užitečné odkazy a příloha	Strana 16

- V rámci diskriminačních PCR bylo dle celorepublikových dat dostupných ve sledovaném 14-denním období od 16. 7. do 30. 7. 2021 vyšetřeno a nahlášeno do ISIN 2312 CoV-2 pozitivních vzorků (tabulka 1). Některé laboratoře ještě nemají export dořešen, přestože vyšetřují v souladu s doporučením NRL a dle pokynu MZ. Suspektní záchyt varianty delta činí ve sledovaném období více než 90 %.
- Ke dni 1. 8. 2021 bylo za ČR osekvenováno a do GISAID vloženo 5774 celogenomových sekvencí (za rok 2021). Zatím do GISAID databáze nebyly vloženy sekvence z IMG (předáno 638 cDNA, vzorky byly osekvenovány a výsledky prostřednictvím ISIN rozeslány) a 9 sekvencí získaných v rámci Česko - Saské přeshraniční spolupráce, kdy Ústecký a Liberecký kraj posílá každý týden do laboratoře v Drážďanech po 24 vzorcích. V rámci této spolupráce bylo osekvenováno 651 vzorků.
- Ve 30. KT týdnu bylo osekvenováno a do GISAID vloženo 399 vzorků s datem odběru v rozmezí 16. 4. - 21. 7. (ve všech 265 vzorcích odebraných do 16.6. byla prokázána varianta alfa, v 64 případech byla prokázána varianta delta). Z červencových pozitivních vzorků bylo osekvenováno celkem 188 materiálů, ve 168 případech byla prokázána varianta delta, v 15 případech varianta alfa. Všechny sekvenované vzorky s datem odběru spadajícím do 29. týdne patřily k variantě delta.

V období od 16. 7. do 30. 7. 2021 má NRL k dispozici data z 2312 provedených testů diskriminační PCR, které byly nahlášeny do ISIN ze 65 laboratoří v ČR, Na základě analýzy těchto dat NRL zjistila, že delta varianta je přítomná přinejmenším v 90 % SARS-CoV-2 pozitivních případů vyšetřených diskriminační PCR. Varianta alfa je přítomná v necelých 10 %. Ostatní varianty mají velmi malý podíl odpovídající méně než jednomu procentu vzorků. Varianta AY.1 (delta +) není jednoznačně detekována v žádné z laboratoří, výsledky diskriminačních PCR z laboratoře z Karlovarského kraje jsou předmětem konfirmace celogenomovou sekvenací ve FN Plzeň.

Přehled důležitých sad mutací uvádíme v následující doporučeních (strany 4 – 6).

Tabulka 1: Přehled vyhodnocení diskriminačních PCR

Mutace	Součet	Procentuální zastoupení ze sady	Interpretace (pouze suspektní varianta)
L452R+	1 182	91,2%	delta
P681R+	310	91,7%	delta
N501Y+, E484K+	6	1%	beta, gama, alfa + E484K
E484K-, N501Y-	519	89,2%	delta
N501Y+, E484K-	54	9,3%	alfa

Odborná doporučení NRL pro diskriminativní PCR SARS-CoV-2 pozitivních vzorků

1. Minimum – vždy povinné: E484K a L452R (potenciálně imunitní escape, určitá míra rezistence vůči protilátkám post vakcinačním a kovalescentním, rezistence vůči některým monoklonálním protilátkám)

Interpretace: obě mutace negativní: alfa (nebo jiné varianty)

E484K pozitivní: alfa + E484K, nebo beta nebo gama nebo jiná „variant of interest“ - VOI (vždy důležitá informace)

L452R pozitivní: delta (nebo C.36, C.36.3 nebo epsilon nebo jiná VOI)

2. Možnost a interpretace: E484K a L452R a N501Y

Vše negativní – VOI, např. lambda nebo jiná linie

N501Y pozitivní: alfa

N501Y pozitivní a zároveň E484K pozitivní: alfa + E484K nebo beta nebo gama

Jen L452R pozitivní: delta (nebo C.36, C.36.3 nebo epsilon nebo jiná VOI)

3. Možnost a interpretace: E484K a L452R a N501Y a K417N

Vše negativní – jiná varianta (včetně některých VOI)

N501Y pozitivní: alfa

N501Y a E484K pozitivní: alfa + E484K nebo gama

Jen L452R pozitivní: delta (nebo C.36 nebo C.36.3 nebo epsilon nebo jiná VOI)

N501Y a K417N pozitivní: beta

L452R a K417N pozitivní: delta plus, tedy AY.1

4. Možnost a interpretace: E484K, L452R, N501Y, K417N a P681R

Vše negativní – jiná varianta (včetně některých VOI)

N501Y pozitivní: alfa N501Y a E484K pozitivní: alfa + E484K nebo gama

Jen L452R pozitivní: C.36, C36.3, epsilon nebo jiná VOI

N501Y a K417N pozitivní: beta

L452R a P681R pozitivní: delta

L452R a P681R a K417N pozitivní: delta plus tedy AY.1

Pro další interpretaci:

<https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern> <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>

Případně kontaktuje NRL.

Závěr odborných doporučení:

NRL v současné době doporučuje testovat jako minimum **L452R a E484K** mutace, doporučení se ale může změnit ve chvíli, kdy se identifikuje jiná potenciálně významná varianta či mutace. V tomto případě bude NRL v pravidelných zprávách a v metodických doporučeních informovat.

Za rok 2021 bylo v ČR celogenomově sekvenováno 5 975 SARS CoV-2 pozitivních vzorků, z toho 651 náleželo Česko-Saské přeshraniční spolupráci. Zdrojem dat je globální mezinárodní platforma GISAID, do které by měla všechna sekvenační centra zadávat celogenomové sekvence. Je patrná jasná dominance varianty delta, která ve 29. týdnu dosáhla 100 % (viz též str. 8 až 10).

Přehled detekovaných VOC v roce 2021 v ČR

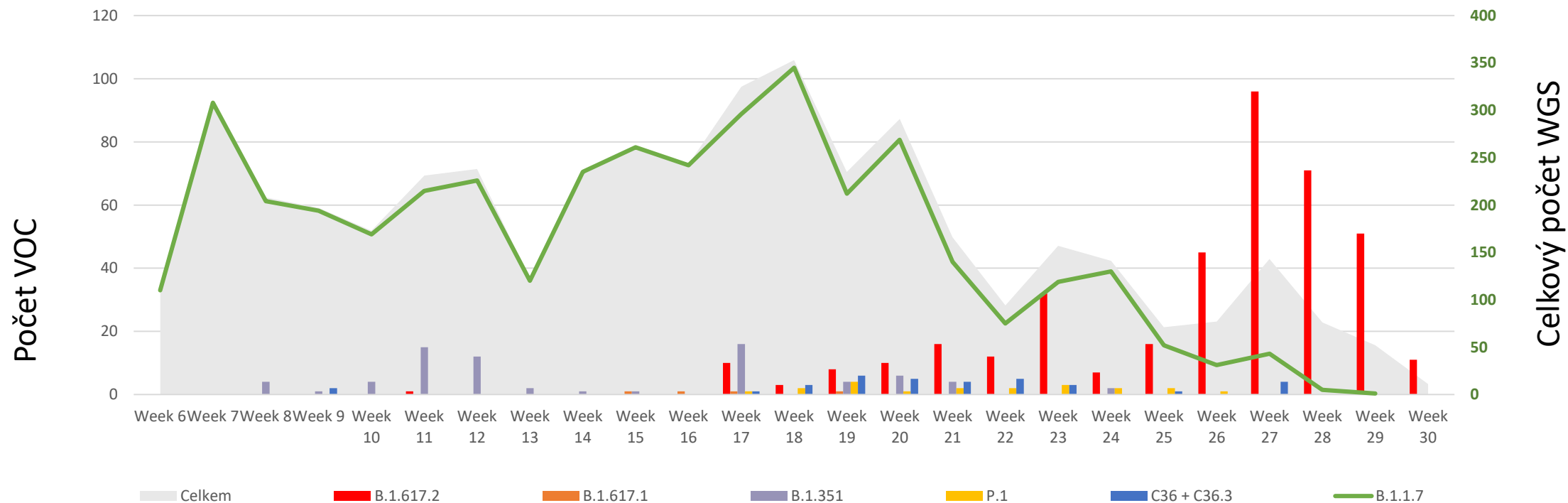
- **Alfa - B.1.1.7:** 4 206 WGS
- **Beta - B.1.351,** 72 případů (ojedinělé detekce)
kraje: Praha, Moravskoslezský, Středočeský, Plzeňský, Královéhradecký, Olomoucký, Karlovarský, Liberecký, Jihomoravský, Vysočina
- **Gamma - P.1,** 23 případů (kraje: Praha, Jihočeský, Pardubický, Jihomoravský, Ústecký)
- **Delta - B.1.617.2,** celkem 403 případů (kraje uvedeny na straně 11)
- **AY.1 (Delta+K417N):** 2 případy (Jihomoravský kraj)
- Kappa B.1.617.1: 4 případy (z dubna- května, bez dalšího šíření a importu, Praha, Středočeský kraj, Královéhradecký kraj)
- Lambda - C.37: jeden případ bez dalšího šíření (Středočeský kraj)

Pozn.: Pokles detekce delta varianty v červenci může být relativní a s postupným dosekvenováním červencových vzorků tento počet pravděpodobně naroste.

	celkem	červen	červenec
Alfa	4 206	288	15
Beta	72	2	0
Gamma	20	7	0
Delta a AY.1	405	165	156
Kappa	4	0	0

Linie-detekované v červenci	Počet WGS
AY.1	2
B.1.1.318	1
B.1.1.523	1
B.1.1.7	15
B.1.617.2	168
B.1.629	2
Celkový součet	189

Přehled dat z celogenomové sekvenace za ČR (VOC) leden až červenec 2021



Graf 1: Přehled detekovaných VOC SARS – CoV-2 ke 31.7.2021 v ČR, výsledky z celogenomové sekvenace

Z grafu je jasně patrná narůstající dominance delta varianty a postupná eliminace všech dalších variant , včetně dříve dominantní varianty alfa. Nižší počet vzorků určených jako varianta delta za poslední 2 týdny je dán zpožděním celogenomové sekvenace.

Graf 2: Dynamika šíření viru a některých dominantních či významných variant od 1. 3. 2020 do 29. 7. 2021

SARS-CoV-2 lineage dynamics

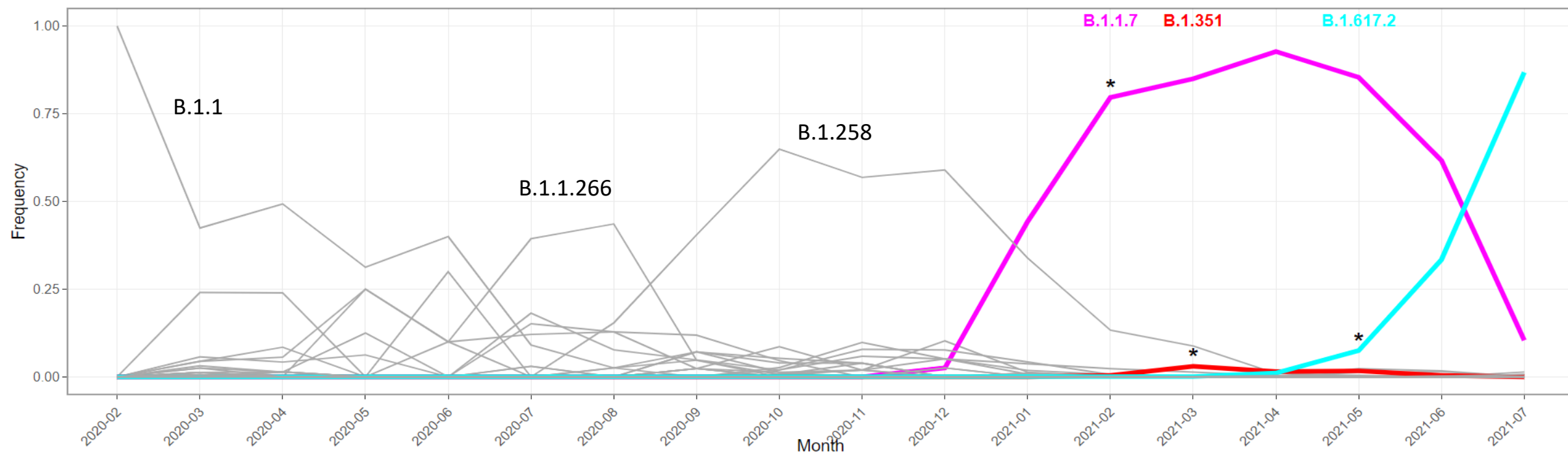


Czechia (Updated on: 21-08-01)

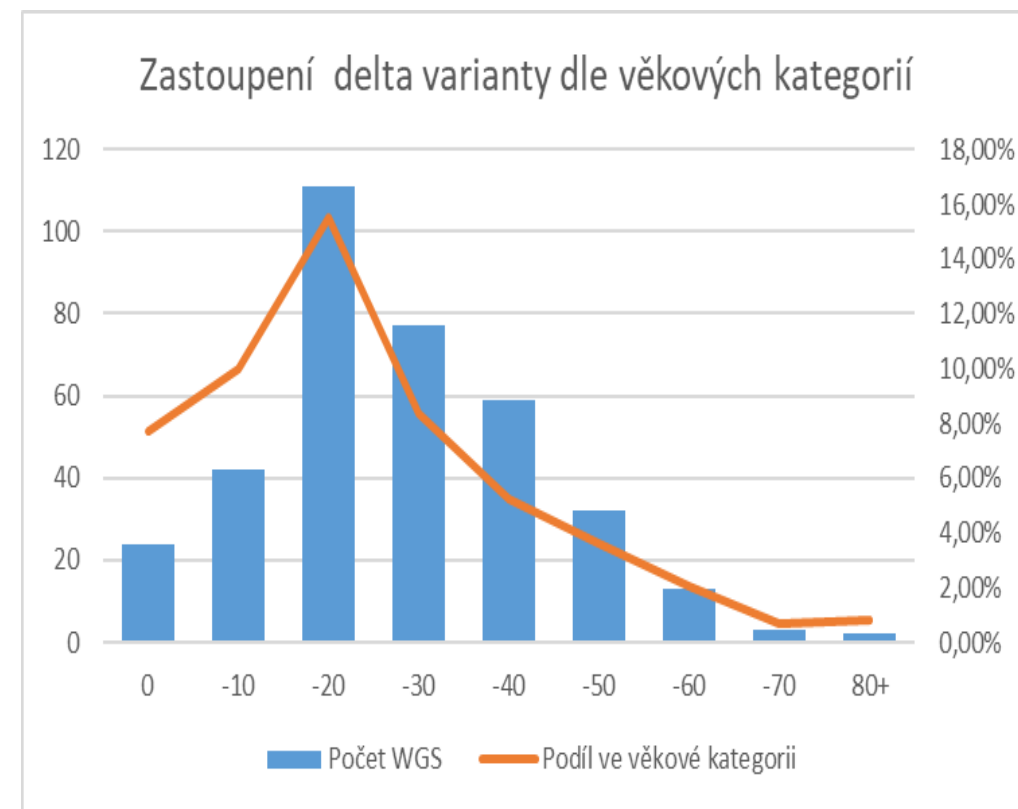
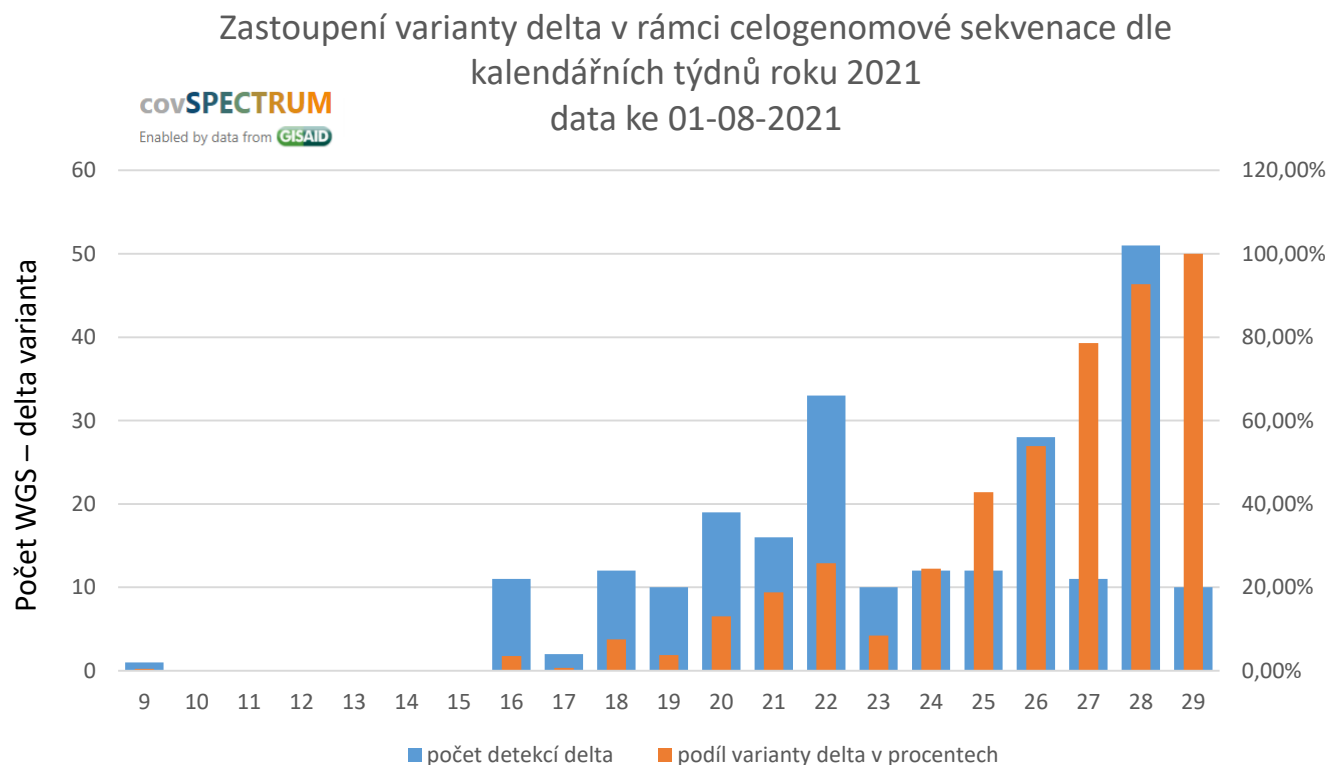
Standard plot

Sub-lineage corrected plot

Sliding window plot



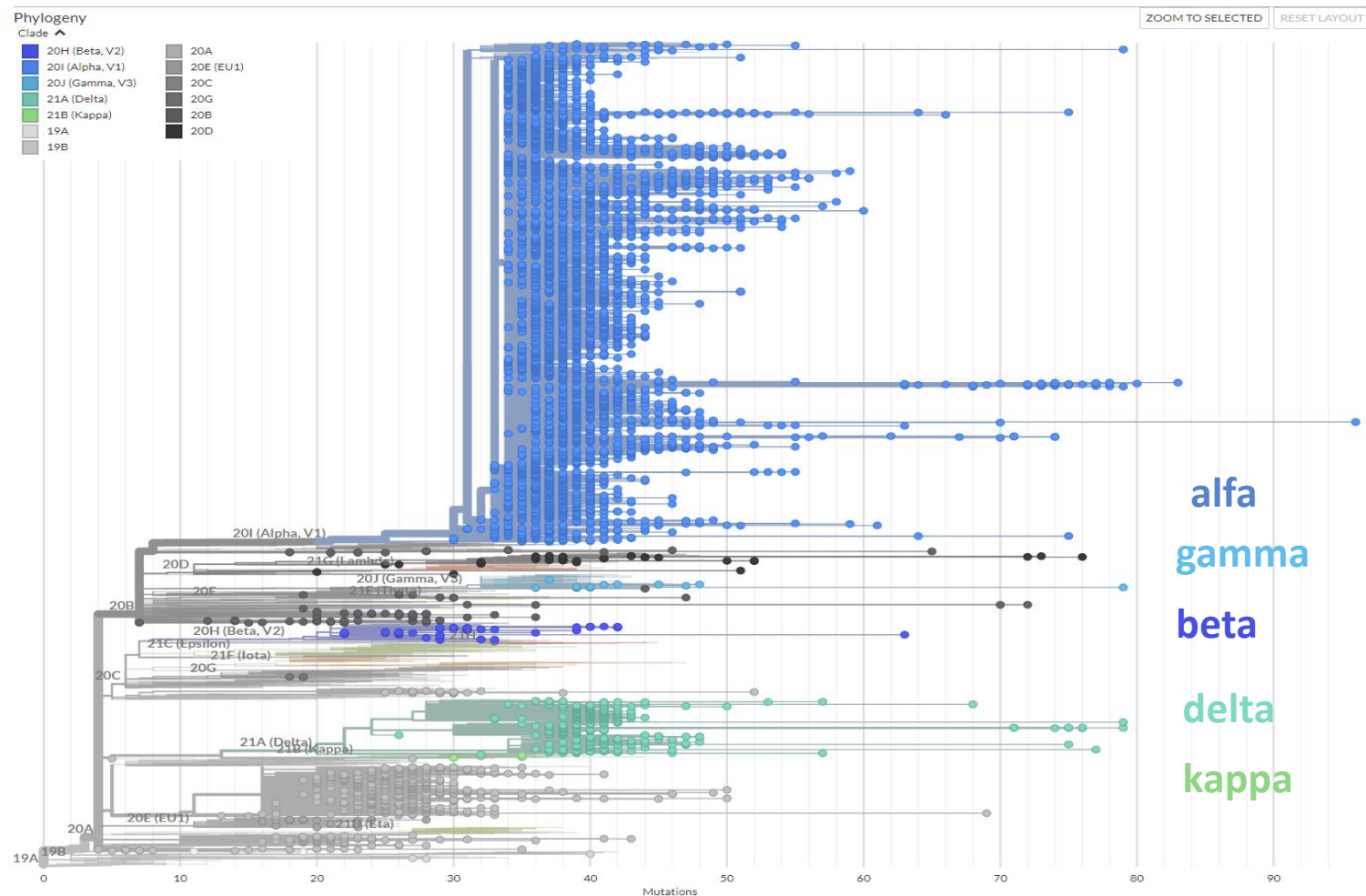
Graf 3: Nárůst podílu detekce delta varianty v celogenomových sekvencích a věková distribuce od 16. KT 2021.



Fylogenetický strom za rok 2021 (k 29.7.2021 5 344 WGS)

Z vyhodnocení 5 344 sekvenačních dat je zřetelná dominance varianty alfa a delta, v souvislosti s šířením varianty delta dochází k poklesu pestrosti detekovaných linií viru SARS-CoV-2.

Linie		Počet WGS
Celkem		5334
B.1.1.7	alfa	4204
B.1.258		397
B.1.617.2	delta	368
B.1.351	beta	72
B.1.221		61
C.36.3	VOI	28
B.1.160		24
P.1		20
B.1.1		19
B.1.1.153		13
B.1		8
B.1.177.8		8
B.1.1.318	VOI	7
C.36	VOI	7
B.1.177		6
B.1.620	VOI	6
B.1.1.219		5
B.1.1.277		5
B.1.1.317		5
B.1.527		5
P.2		5
A		4
B.1.1.523		4
B.1.36.36		4
B.1.416.1		4
B.1.617.1	VOI	4
AY.1	delta +	2
Ostatní		43

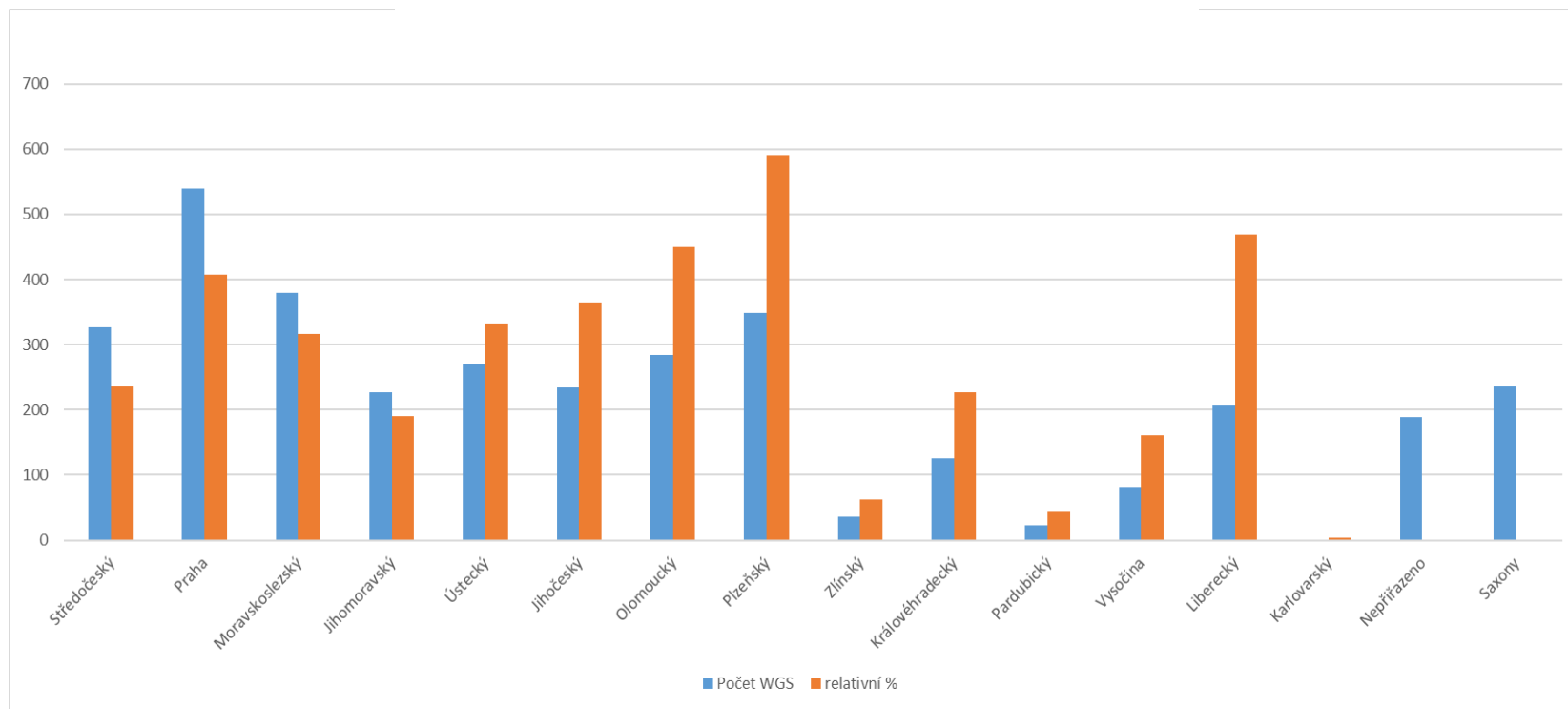


Podíl významných vzorků a přehled sekvenací v krajích za květen až červenec 2021

Tab 2: Přehled významných vzorků k sekvenaci - červenec

Kraj	Celkem pozitivních vzorků	Celkem významných vzorků	Podíl významných vzorků
Jihočeský	88	26	29,5%
Jihomoravský	141	61	43,3%
Karlovarský	108	33	30,6%
Královéhradecký	98	40	40,8%
Liberecký	69	20	29,0%
Moravskoslezský	688	202	29,4%
Olomoucký	51	19	37,3%
Pardubický	86	30	34,9%
Plzeňský	396	120	30,3%
Praha	1619	577	35,6%
Středočeský	311	97	31,2%
Ústecký	13	1	7,7%
Vysočina	25	9	36,0%
Zlínský	33	13	39,4%
Celkem	3726	1248	33,5%

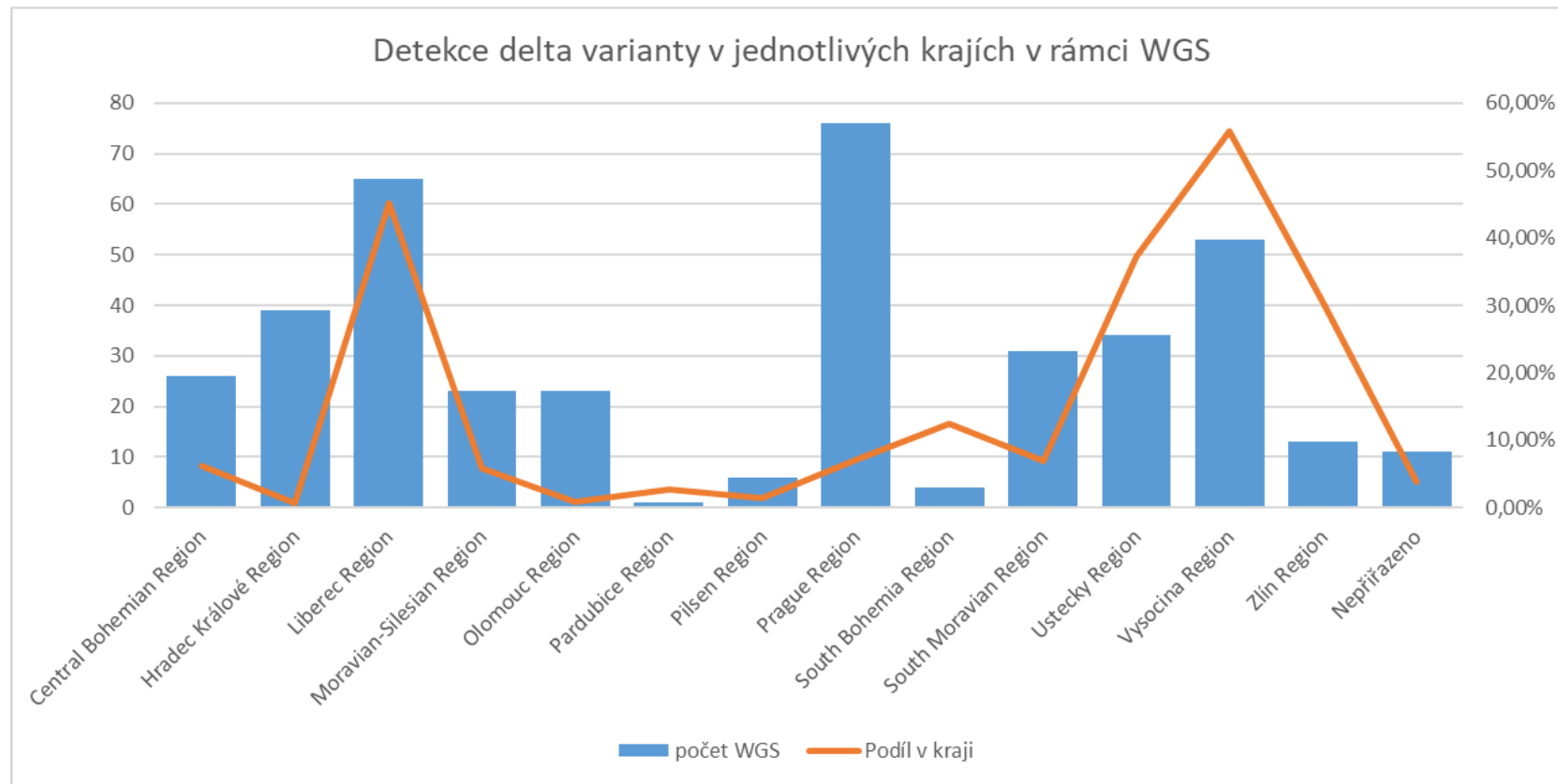
Graf 4: Přehled osekvenovaných vzorků v jednotlivých krajích vztahených k relativní hodnotě populace v kraji (značeno oranžově)



Dle algoritmu strategie sekvenování bylo v červenci definováno vždy přibližně 30 % vzorků k sekvenaci (významné vzorky). V době nízké incidence by měl být podíl významných vzorků zvýšen na aktuální sekvenační kapacitu odpovídající Národní strategii molekulárně biologické surveillance. Nejlidnatější kraje - Středočeský, Praha a Severomoravský patří k nejpodrobněji osekvenovaným.

Detekce varianty delta v poměru ke všem WGS v krajích (data k 31. 7. 2021)

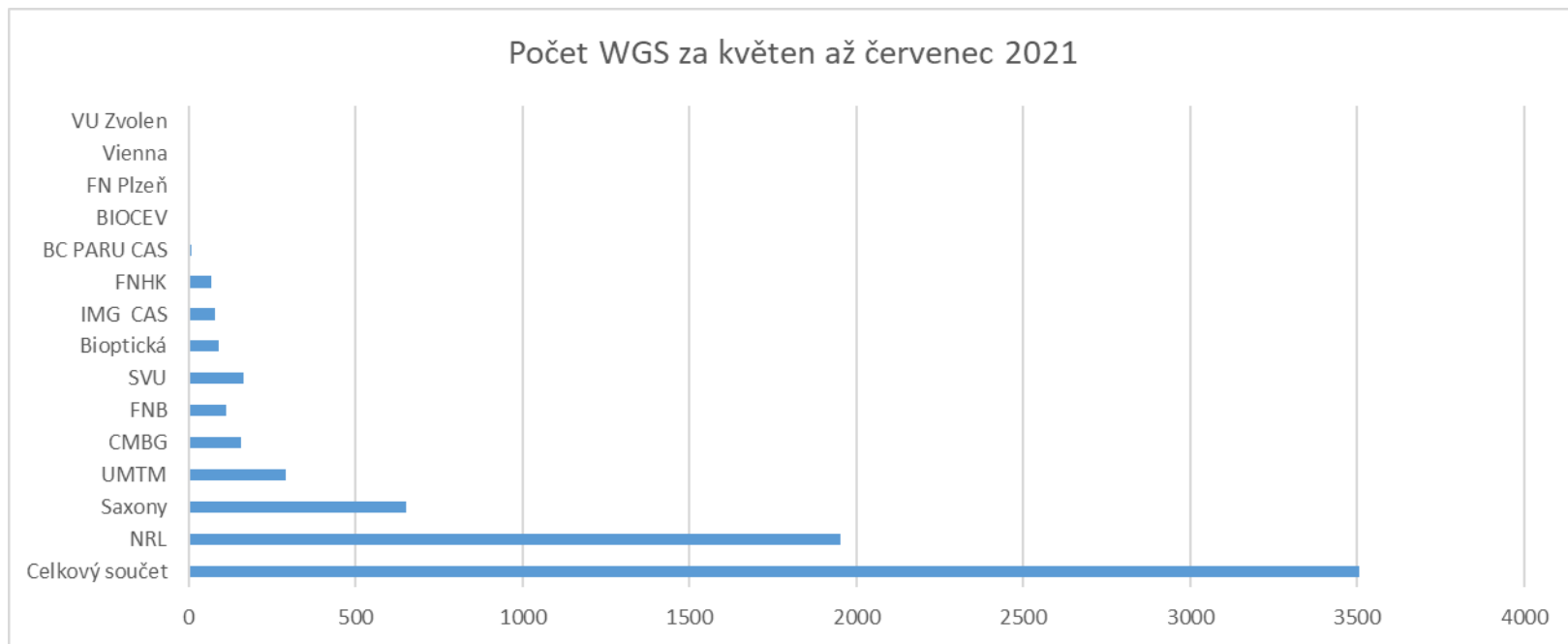
Kraj	počet delta
celkem	405
Praha	76
Liberecký	65
Vysočina	53
Jihomoravský	31
Královéhradecký	39
Ústecký	34
Středočeský	26
Moravskoslezský	23
Olomoucký	23
Zlínský	13
Nepřiřazeno	11
Plzeňský	6
Jihočeský	4
Pardubický	1



Praha, Liberecký kraj a Vysočina jsou kraje s nejvyšším absolutním počtem prokázané delta varianty. Nízký podíl v Praze a některých dalších regionech je dán velkým množstvím osekvenovaných vzorků za rok 2021.

Počet celogenomových sekvencí vložených do GISAID jednotlivými sekvenačními centry (období květen až červenec 2021)

Sekvenační centrum	Počet WGS	% WGS
Celkový součet	3506	
NRL	1951	55,6%
Saxony	651	18,6%
UMTM	290	8,3%
CMBG	157	4,5%
FNB	111	3,2%
SVU	163	2,7%
Bioptická	88	2,5%
IMG CAS	79	2,3%
FNHK	68	1,9%
BC PARU CAS	7	0,2%
BIOCEV	3	0,1%
FN Plzeň	3	0,1%
Vienna	2	0,1%
VU Zvolen	1	0,0%



Za květen až červenec bylo osekvenováno celkem 3 506 vzorků, kdy je přibližně 50 % vzorků zpracováno v NRL a osekvenováno v ECDC sekvenačním centru (Eurofins, ECDC NGS support). I druhé nejvíce sekvenující centrum je zahraniční, a vychází z Česko-saské přeshraniční spolupráce, která byla zahájena v únoru. Stále sekvenují i některá centra, která nejsou součástí Národní strategie molekulárně biologické surveillance (CMBG, Bioptická a GHC).

Na základě kombinovaných dat z celogenomové sekvenace a diskriminační PCR je zřejmé, že v červenci začala v ČR dominovat delta varianta. Varianta delta je zhruba o 60 % nakažlivější oproti alfa variantě (dle Public Health England). Přestože delta jasně dominuje, dochází stále k poklesu incidence SARS-CoV-2, jak vyplývá z celkových dat uveřejňovaných ÚZIS.

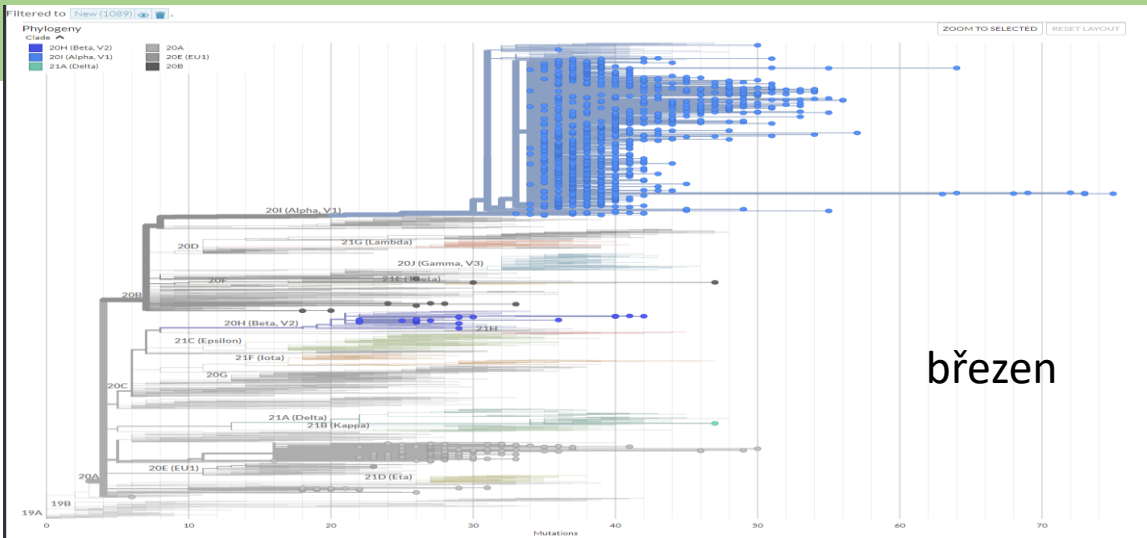
Přes tento pokles, je obezřetnost na místě. Je možné, že se projevuje kolektivní ochrana v důsledku předchozí vysoké incidence a poměrně vysoké proočkovanosti populace. Z relativně malého počtu pozitivních detekcí viru při současné dominanci varianty delta lze soudit na účinnost vakcinace, a současně přetrvávající ochranu post infekčních protilátek, kdy je třeba počítat s faktem, že v ČR bylo v rámci předchozích vln pozitivně detekováno či onemocnělo více než 15 % obyvatel.

Věková distribuce naznačuje, že nejvíce zasaženou je aktuálně populace ve věku 20 – 40 let, u které není riziko těžkého průběhu a hospitalizace vysoké (viz graf 3).

Helena Jiřincová, Timotej Šúri, Jan Moskalyk

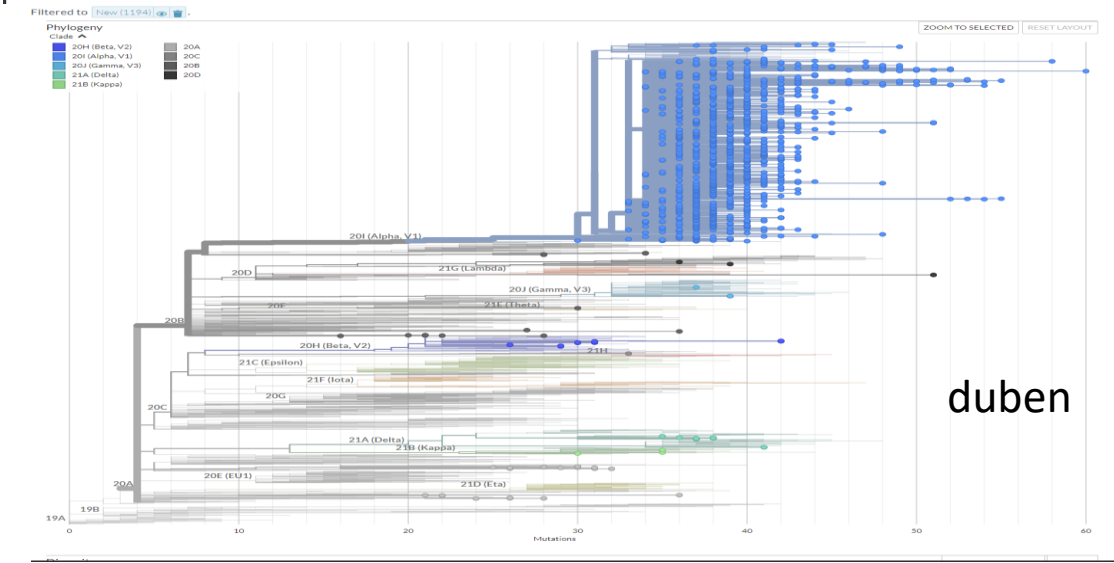
- <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
- <https://cov-spectrum.ethz.ch/explore/Czechia/>
- <https://sarscoverage.org/results/CZ.html>

Fylogenetický strom břez - červenec 2021

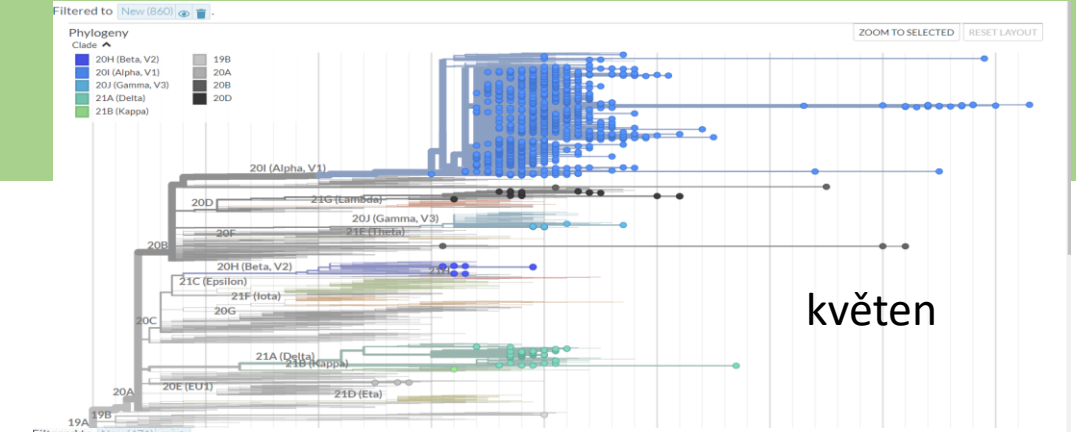


břez

alfa
gamma
beta
delta
kappa

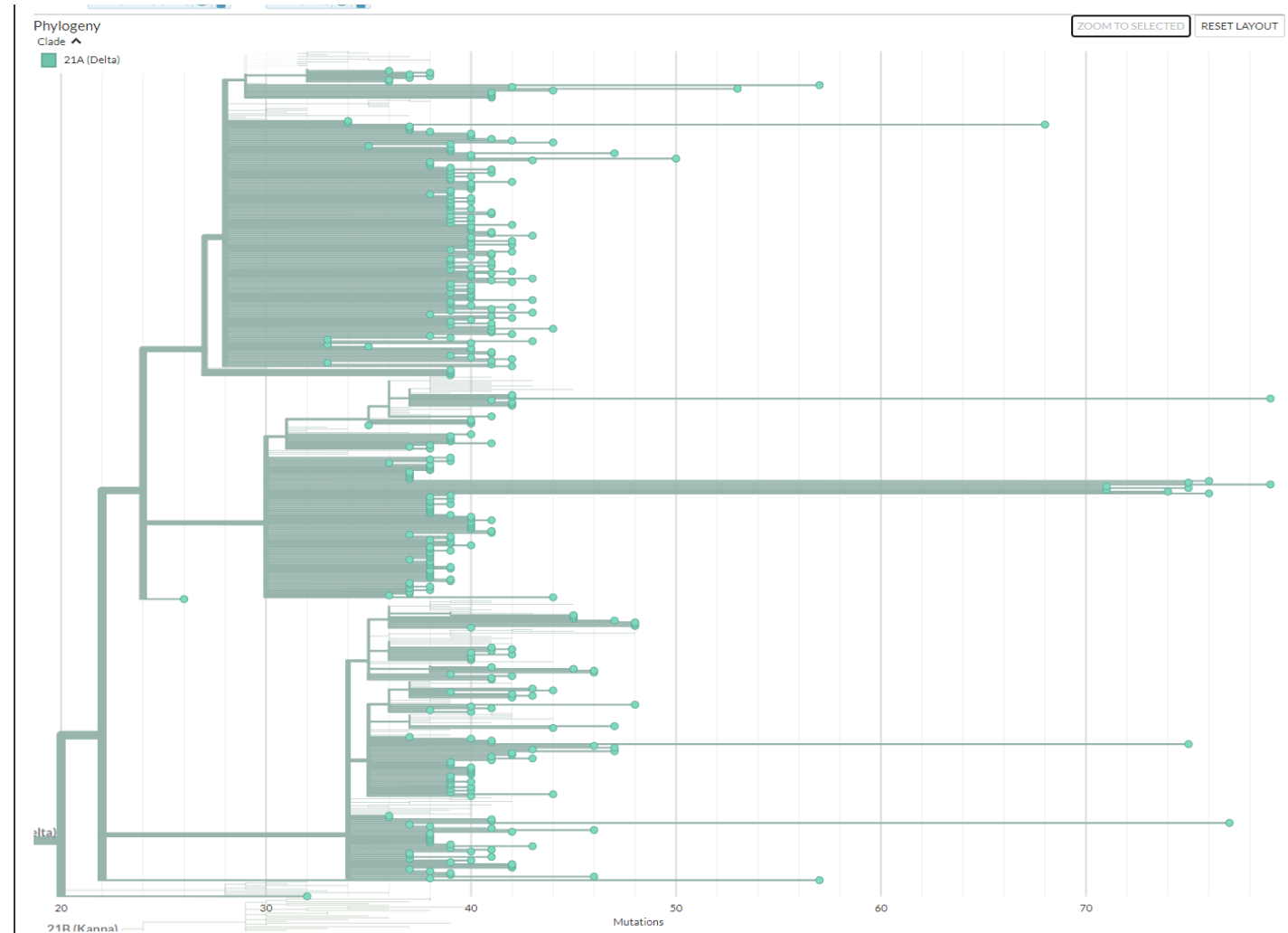


duben



Fylogenetický strom delta varianty, analýza sekvencí za duben – červenec 2021

Z analýzy WGS delta varianty je vidět několik nezávislých vnosů a následné komunitní šíření. Na straně 19 je zobrazena podrobnější analýza po kalendářních měsících.



Fylogenetická analýza delta varianty v ČR, duben – červenec 2021

