

Celogenomová sekvenace (WGS) virových vzorků je v současnosti jedinou efektivní cestou monitoringu epidemické situace, kdy se objeví ohnisko charakterizované změnou jedné z proměnných, které používáme pro sledování epidemie. NRL opakovaně apeluje na nutnost sběru vzorků k sekvenaci z takovýchto ohnisek. Jedná se o včasné zachycení variant s potenciálem ovlivnit epidemickou situaci, zhoršit průběh onemocnění nebo uniknout vakcinaci. Signály pro zaslání vzorků na sekvenaci jsou:

- Zvýšení R v lokálních ohniscích. Rychlé šíření je prvním signálem.
- Nakupení výsledků s nízkými hodnotami Ct v oblasti/ohnisku (Ct < 16).
- Zvýšení podílu inaparentních průběhů infekce s jasnou pozitivitou Ct < 26.
- Pacienti s atypickými klinickými projevy, neobvyklé pozitivní materiály (např. plná krev, liquor)
- Osoby mladší 50 let bez významných komorbidit v těžkém stavu.
- Hospitalizované děti mladší 16 let.

Další pacienti, které stojí za zvýšenou pozornost a jsou vhodné k odběru vzorků pro celogenomovou sekvenaci jsou:

- Aktuálně se navrátilí osoby z různých zemí s komplikovaným průběhem pandemie (nyní např. JAR, Brazílie, Japonsko, UK)
- Pozitivní PCR s Ct < 30 po vakcinaci.

Právě jednou z indikací pro celogenomovou sekvenaci vzorků z Trutnovska a Náchodska byla zpráva z EWRS z Německa, kterou obdrželo MZ/KHS, o souvislosti detekce britské varianty na území Německa s možným přesahem do Královéhradeckého kraje. Druhou indikací byla vyšší míra šíření onemocnění na Trutnovsku a vysoká zátěž tamní nemocnice. Ve spolupráci s epidemiologem byly shromážděny primární klinické materiály z 1. kalendářního týdne (5. ledna - 10. ledna 2021), u kterých byla předchozím PCR vyšetřením stanovena SARS CoV-2 pozitivita s hodnotou Ct < 20. Do testování byly současně zařazeny i vzorky z laboratoře Pronatal v Praze.

WGS proběhla v rámci spolupráce NRL s Oddělením genomiky a bioinformatiky Ústavu molekulární genetiky AV ČR, a současně proběhlo ověření protokolu WGS na platformě Illumina NextSeq. Z celkem 95 vzorků byly z konečného hodnocení pro nedostatečnou kvalitu sekvenace vyřazeny pouze 4 vzorky.

Výsledky této analýzy lze shrnout:

- V rámci všech analyzovaných vzorků majoritní zachycenou linií (cca 40 %) je B.1.258, tzv. česká varianta 20A klády, nesoucí delecii histidinu a valinu na pozici 69 a 70 a současně substituci lysinu za asparagin (N439) ve spike proteinu.
- Hned druhou významně zastoupenou linií byla varianta 20I/501Y.V1 (B.1.1.7), tzv. britská varianta, byla detekována ve 30 % všech analyzovaných vzorků (Obr.1).

Závěr:

Celorepublikové rozšíření jednotlivých variant není pravděpodobně rovnoměrně zastoupeno. Již v prvním kalendářním týdnu 2021 incidence tzv. britské varianty dosahovala ve vybraných vzorcích na Trutnovsku 60% zastoupení, v Náchodsku se pohybovala kolem 50 %, naopak v Praze dosahovala necelých 10 %. Tomuto zjištění odpovídá i skutečnost, že jsme v analyzovaných vzorcích při omezené sekvenační kapacitě soustředěné především na Prahu a Středočeský kraj tuto variantu během roku 2020 nedetekovali.

Celorepubliková sekvenační surveillance je nezbytná pro sledování vzniku a šíření adaptačních variant viru SARS-CoV-2, a tím i pro mapování šíření variant, které se ještě v důsledku šíření viru a selekčního tlaku budou objevovat.

Zpracovali:

Helena Jiřincová, NRL pro chřipku a nechřipkovou respirační virovou onemocnění
Jan Pačes, Oddělení genomiky a bioinformatiky, Ústav molekulární genetiky AV ČR

