

Celogenomové sekvence a živé virové kultury viru SARS-CoV-2 od českých prvních pozitivních pacientů s infekcí COVID-19

SARS-CoV-2 whole genome sequences and live virus cultures from the first Czech COVID-19 positive patients

Alexander Nagy, Daniel Krsek, Klára Labská, Helena Jiřincová

Souhrn • Summary

NRL pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění, detekovala prvé 3 pozitivní případy v ČR 1. 3. 2020. Tyto 3 pozitivní případy byly odeslány ke konfirmaci do EU referenční laboratoře Charité v Berlíně, přesto ještě před oficiální konfirmací pozitivita, byla parciální sekvenací S genu potvrzena pozitivita přímo v laboratoři. Shodou okolností právě u prvního záchytu jsme dokázali ve spolupráci s SVU Praha získat první českou celogenomovou sekvenci, která byla již 12. 3. 2020 přijata do databáze GISAID. Kmen se zařadil do skupiny „clade“ G, stejně jako další dva osekvenované materiály. Do této klády patří nejen většina italských záchytů viru, ale také většina záchytů z Evropy. Další 2 celogenomové sekvence byly získány v Charité a lze říci, že vyjma několika krátkých úseků, kde je čtení pro Oxford Nanopore technologii obtížné, jsou všechny 3 sekvence shodné, přestože se jedná o 3 nezávislé vstupy.

Současně byla NRL úspěšná v izolaci 3 kmenů viru na VERO buňkách. V současnosti je v NRL prováděna především přímá laboratorní diagnostika nového pandemického viru SARS-CoV-2, doposud vyšetřila více než 4 000 pacientů.

The National Reference Laboratory for Influenza and Non-Influenza Viral Diseases (NRL) detected the first three COVID-19 cases in the Czech Republic on 1 March 2020. Their results were referred for confirmation to the EU reference laboratory Charité in Berlin. Before obtaining the official results, the NRL confirmed the COVID-19 positivity by partial S gene sequencing. Coincidentally, in collaboration with the State Veterinary Institute Prague, the first Czech whole genome sequence was obtained for the first virus detected and was submitted to the GISAID database on 12 March 2020. The strain was assigned to clade G, similarly to the other two strains sequenced. Clade G groups not only most Italian but also most European strains. The other two whole genome sequences were obtained from Charité. It can be stated that except for short nucleotide motifs, which are difficult to read by the Oxford Nanopore technology, all three sequences are identical although originating from three different inputs.

The NRL also successfully isolated three strains of the virus on VERO cells. At present, the NRL performs mainly direct diagnosis of the new pandemic virus SARS-CoV-2. Over 4 000 patients have been tested to date by the NRL. Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2020; 29(2): 63–65

Klíčová slova: SARS-CoV-2, celogenomová sekvence, infekce COVID-19

Key words: SARS-CoV-2, whole genome sequencing (WGS), COVID-19 infection

V Oddělení pro respirační, střevní a exantematické virové nákazy CEM–SZÚ byl 1. března diagnostikován první český případ onemocnění COVID-19 u muže s anamnézou pobytu v severní Itálii. Ve spolupráci s Oddělením molekulární diagnostiky Státního veterinárního ústavu v Praze se podařilo získat celou sekvenci genomu viru (technologie Nanopore

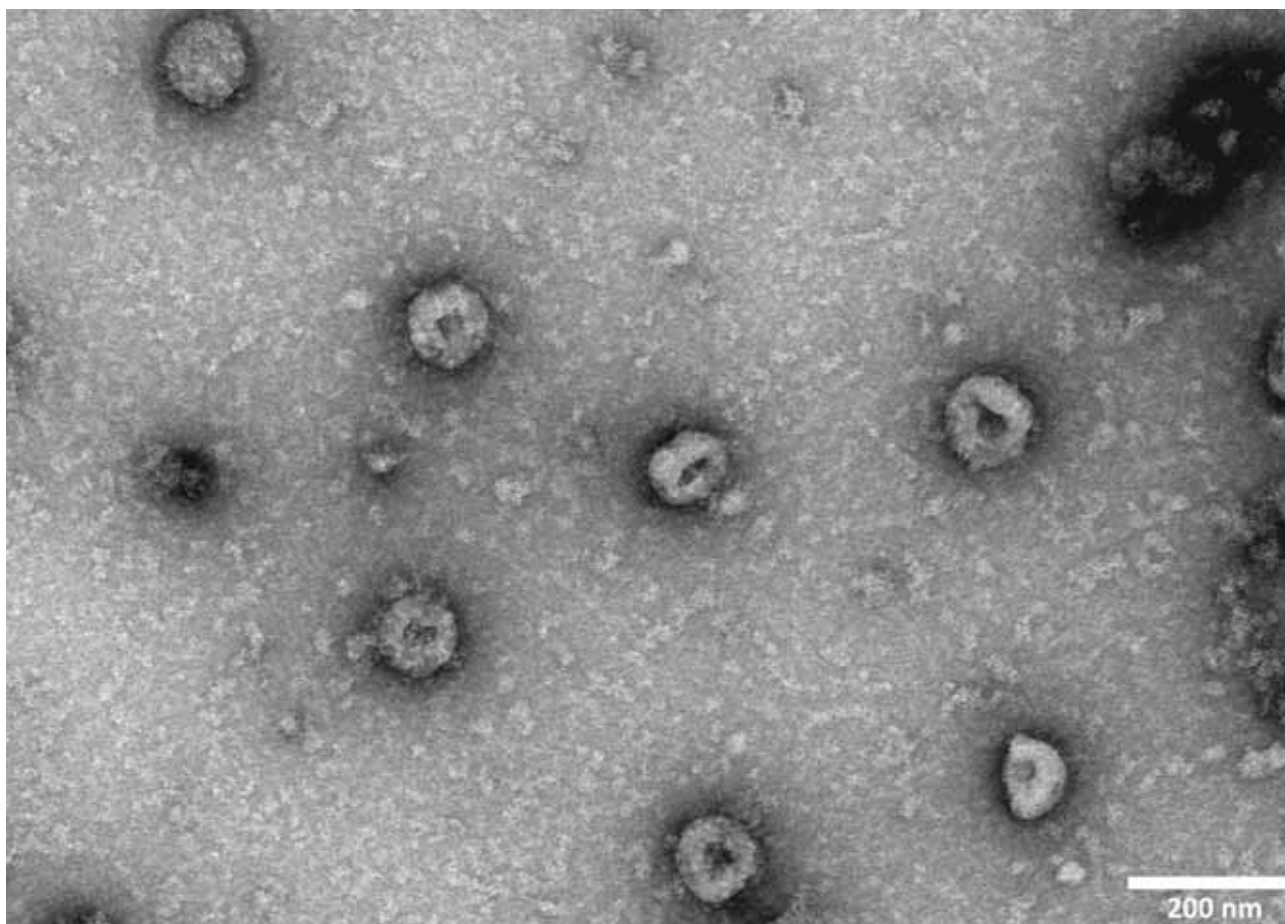
MinION) sekvenací izolátu nukleové kyseliny z nasopharyngeálního výtěru. Sekvence je volně dostupná v databázi GISAID pod registračním číslem EPI_ISL_414477.

SARS-CoV-2/human/Czech Republic (Ústí nad labem)/951/2020 951/2020 EPI_ISL_414477

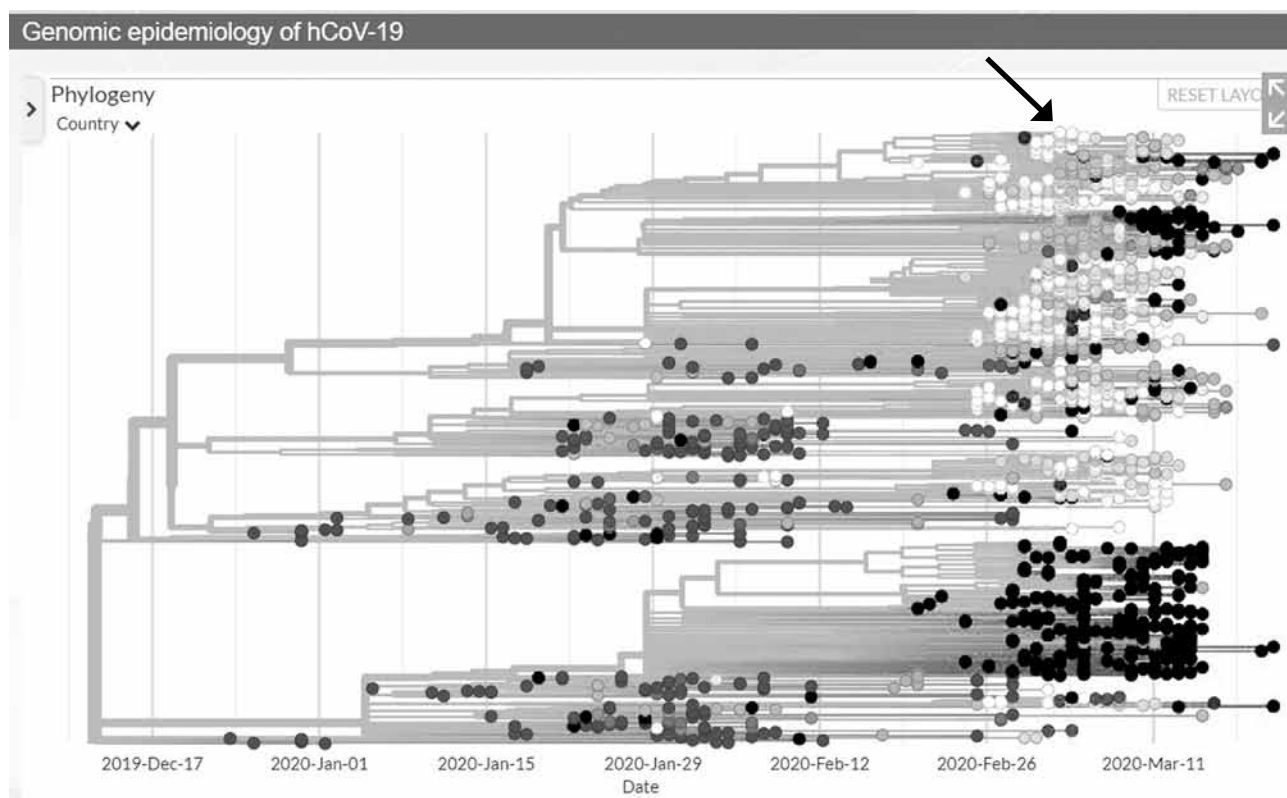
Kmen spadá do clade A2a (zdroj GISAID).

Všechny tři osekvenované kmény byly dle epidemiologických anamnéz importovány z Itálie.

Obr. 1: SARS-CoV-2 (kultivace výtěru HCD na tkáňové kultuře VERO) elektronmikroskopický snímek pořízený na transmisním elektronovém mikroskopu Hitachi HT-7800 (negativní barvení, zvětšení 40 000x)



Obr. 2: Fylogenetický strom celogenomových sekvencí SARS CoV-2



Zdroj: GISAID

Virus se podařilo též kultivačně zachytit na tkáňové kultuře (VERO), viz fotografie pořízená v NRL pro průkaz infekčních agens elektronovou mikroskopií CEM–SZÚ.

Další 2 izoláty osekvenovala a zadala do GISAID databáze laboratoř v Charité-Berlín (EPI_ISL_416742 and EPI_ISL_416743).

*RNDr. Alexander Nagy, Ph.D.
Státní veterinární ústav, Praha*

*RNDr. Daniel Krsek
NRL pro průkaz infekčních agens elektronovou
mikroskopií, CEM, SZÚ*

*MUDr. Klára Labská
NRL pro herpetické viry, CEM, SZÚ*

*RNDr. Helena Jiřincová
NRL pro chřipku a nechřipková respirační virová
onemocnění, CEM, SZÚ*