

Pokyny pro sledování variant SARS-CoV-2

Prozatímní pokyny

pondělí 9. srpna 2021



Klíčové body

- Rizika v oblasti veřejného zdraví v souvislosti se známými a novými variantami vyvolávajícími zájem (VOI) a variantami vzbuzujícími obavy (VOC) mohou být rozdělena do pěti hlavních kategorií: vyšší transmisibilita; závažnější klinický průběh; nemožnost detekce diagnostickými testy; únik před přirozenou imunitou nebo imunitou získanou z očkování a snížená citlivost na léčbu.
- Pro sledování výskytu a dopadu VOI a VOC je nezbytné rutinní genetické sekvenování. Země s omezenou sekvenovací kapacitou jsou důsledně vyzývány k tomu, aby podnikly kroky vedoucí k navázání regionálních a mezinárodních partnerství v oblasti sekvenování nebo posílily své možnosti sekvenování prostřednictvím stávajících systémů nebo laboratorních sítí.
- Odběr vzorků pro genetické sekvenování by měl zahrnovat všechny následující podskupiny, je-li to možné:
 - randomizované vzorky reprezentující geografickou a demografickou distribuci nákazy SARS-CoV-2
 - cílený odběr vzorků zaměřený na specifické podskupiny případů spojené s riziky pro veřejné zdraví: nediodagnostikované případy, očkované případy, případy opětovné nákazy, případy s narušenou imunitou
 - epidemie, varování nebo jiné neobvyklé události.
- Neočekávané trendy nebo signály vyplývající z rutinního epidemiologického sledování (nebo jiných zdrojů), jako například narůstající trendy v rámci průběhu epidemie s rozsáhlým dopadem na veřejné zdraví, mohou svědčit o potenciální VOI nebo VOC.
- Všechny zaznamenané sekvence by měly být spojeny s minimálními příslušnými informacemi označovanými jako metadata a zahrnujícími důležité podrobnosti. Je-li to možné, měla by být jejich součástí deskriptivní metadata a charakterizující metadata.
- Pro přesnou a rychlou charakteristiku rizik variant SARS-CoV-2 pro veřejné zdraví je nezbytná kombinace laboratorní vědy, klinických projevů a podrobných epidemiologických šetření.
- Okamžité sdílení informací týkajících se genomových sekvencí variant SARS-CoV-2 ve veřejných databázích je zásadní pro globální porozumění a kontrolu SARS-CoV-2.

Účel dokumentu

Cílem tohoto dokumentu je popsat minimální nezbytné aktivity v oblasti sledování doporučené na národní úrovni pro odhalování a sledování relativní prevalence variant SARS-CoV-2 a vymezení aktivit nezbytných pro charakteristiku a hodnocení rizik, která tyto varianty představují. Rovněž jsou zde uvedeny indikátory pro standardizaci monitorování a veřejné hlášení cirkulace variant.

Tento dokument je primárně určen pro orgány veřejného zdraví na národní a nižší úrovni a pro partnery, kteří podporují realizaci sledování variant SARS-CoV-2. Další pokyny byly publikovány pro klíčové laboratorní aktéry ohledně diagnostického testování [na SARS-CoV-2](#) a [sekvenování pro dosahování cílů v oblasti veřejného zdraví](#) a dále [pokyny pro realizaci sekvenování pro SARS-CoV-2](#).

Základní informace

SARS-CoV-2 je obalený, pozitivní, jednořetězcový RNA virus s genomem o 30 kilobázích, který stejně jako všechny viry v průběhu času akumuluje nukleotidové mutace. Tyto mutace vedou k vzniku odlišných virových variant. Od chvíle, kdy byl SARS-CoV-2 charakterizován (1), bylo prováděno genomové sekvenování pro identifikaci mutací a případných odpovídajících substitucí aminokyselin. I když se výskyt těchto nových variant předpokládá a většina z nich nemá vliv na chování viru, některé mutace mohou vést ke změnám fenotypu.

Rizika známých a nových variant pro veřejné zdraví je možné obecně rozdělit do pěti hlavních kategorií:

- vyšší transmisibilita v důsledku zvýšeného vylučování viru, afinity k hostitelským buňkám nebo stability viru
- atypický klinický průběh (např. vyšší závažnost, atypické známky a příznaky)
- nemožnost diagnostiky: snížená výkonnost některých laboratorních diagnostických metod, zejména molekulárních testů, jako je testování amplifikace nukleových kyselin (NAAT) (2) a rychlých diagnostických testů pro detekci antigenů
- snížená účinnost přirozené imunity a imunity získané na základě očkování: schopnost varianty částečně uniknout reakci protilátek hostitele a potenciálně vyšší pravděpodobnost opětovné nákazy nebo nákazy po očkování
- snížená citlivost na léčbu: potenciální schopnost nové varianty uniknout protilátkové léčbě je důvodem k obavám (3) a vedla ke změnám v doporučení ohledně užívání některých léčiv.

Světová zdravotnická organizace (WHO) klasifikuje „varianty vyvolávající zájem“ (VOI) a „varianty vzbuzující obavy“ (VOC) podle globálního dopadu těchto faktorů. K 9. červenci 2021 WHO určila sedm VOI a čtyři VOC (4).

Globální sledování genomu SARS-CoV-2 je pro veřejné zdraví naprosto zásadní, přičemž jeho primárním cílem je sloužit jako podklad pro rozhodnutí na národní i globální úrovni v oblasti veřejného zdraví a sociálních otázek, diagnostiky, léčby a očkování. Sledování variant je možné provádět na základě sledování genomu i prostřednictvím detekce epidemiologických signálů a neočekávaných trendů. Tyto dva zdroje důkazů by měly být včas propojeny, aby bylo možné komplexně porozumět evoluci viru a jejímu potenciálnímu dopadu na kontrolu onemocnění a odpovídajícím způsobem reagovat v oblasti veřejného zdraví.

Navzdory problematickým fenotypům známých VOI a VOC WHO i nadále doporučuje zavádění a upravování zdravotních a společenských opatření pro kontrolu přenosu, jak je popsáno ve [stávajících pokynech WHO](#). Je však třeba důsledně sledovat dopad současných variant na efektivitu těchto opatření.

Pokyny ohledně diagnostického testování pro SARS-CoV-2 jsou uvedeny [zde](#) a specifické pokyny pro použití rychlých diagnostických testů pro detekci antigenů jsou uvedeny [zde](#).

Důkazy o tom, že vakcíny mohou méně chránit proti konkrétní variantě, mohou vyplynout ze studií genomu a strukturální biologie, studií na zvířatech a in-vitro neutralizačních testů. Nižší klinická účinnost vakcíny v rámci ochrany proti nákaze a onemocnění v souvislosti s konkrétní variantou u lidí však představuje nejsilnější důkaz. Epidemiologická data o účinnosti vakcín proti novým variantám budou primárně pocházet z observačních studií klinické účinnosti vakcín; viz [Dodatek k hodnocení klinické účinnosti vakcín proti COVID- 19](#).

S pokračujícím šířením nemoci se pravděpodobně bude objevovat stále více variant, které mohou být vystaveny selektivnímu tlaku ze strany přirozené imunity, vakcín a léčiv.

Metodologie

Tyto prozatímní pokyny WHO sepsalo WHO a Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí USA (CDC USA) po konzultaci s Africkými centry pro kontrolu a prevenci nemocí (ACDC) a Evropským centrem pro kontrolu a prevenci nemocí (ECDC), přičemž další zpětnou vazbu poskytly poradní skupiny expertů, jako například Epidemiologická technická poradní skupina WHO. Pokyny jsou založeny na přezkumu nových důkazů o metodách epidemiologie a charakteristiky variant se zohledněním všech regionů a s použitím vyhledávačů v anglickém jazyce. Vyhledávaná témata zahrnovala následující: strategie odběru vzorků zaměřená na zdraví, genomové sekvenování, fylogenie, metody genomové epidemiologie a sledování, řízení genomových metadat a databází, analýza genomové databáze pro účely veřejného zdraví a konkrétní důkazy o charakteristice specifických mutací a variant vzbuzujících obavy a vyvolávajících zájem. Důkazy byly sloučeny do jednotlivých tematických oddílů pokynů. Odborníci poskytli další reference a rovněž se odkazovalo na stávající pokyny WHO a dalších partnerů; viz tabulka níže. Tento dokument bude aktualizován s tím, jak se budou objevovat nové důkazy a metodologie pro zkoumání variant.

1. Sledování variant SARS-CoV-2

1.1. Budování kapacity pro sekvenování genomu

Kapacita pro sekvenování viru SARS-CoV-2 se v průběhu pandemie výrazně zvýšila. Kapacita pro sekvenování se však výrazně liší v rámci jednotlivých zemí a mezi nimi. V důsledku toho se množství genetických sekvenčních dat (GSD), kvalita metadat, která GSD doprovázejí, a interval mezi odběrem vzorků a sekvenováním a hlášením v jednotlivých zemích velmi liší. WHO tak s cílem pomoci tento problém řešit dne 8. ledna 2021 publikovalo dvojice prozatímní pokyny týkající se genomového sekvenování SARS-CoV-2, aby bylo možné sledovat geografické šíření viru v průběhu času a zajistit, aby byly mutace s vysokým potenciálem pro ovlivnění transmisibility, patogenity a zdravotnických protipatření rychle identifikovány a vyhodnoceny: [Genomové sekvenování SARS-CoV-2 pro cíle v oblasti veřejného zdraví](#) a [Genomové sekvenování SARS-CoV-2: průvodce implementací pro maximální dopad na veřejné zdraví](#). Centra pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC USA) rovněž publikovala sadu nástrojů pro genomovou epidemiologii v souvislosti s COVID-19 (6).

Země s omezenou kapacitou pro provádění sekvenování jsou důrazně vyzývány k tomu, aby podnikly kroky pro usnadnění přístupu k existujícím regionálním a mezinárodním sítím a partnerstvím v rámci sekvenování. Země mohou rovněž navýšit svoji kapacitu pro sekvenování prostřednictvím stávajících systémů sledování umožňujících sekvenování, jako je systém pro globální sledování a reakci na chřipku Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) nebo stávající regionální síť. Projekt [Shipping Fund](#) má za cíl podporovat přepravu vzorků pro sekvenování a sdílení dat. Spolupráce se zkušenými laboratořemi a dalšími potenciálními partnery může zahrnovat orgány veřejného zdraví, neziskové organizace, akademická centra nebo komerční subjekty. Vedle celogenomového sekvenování mohou země rovněž provádět screening na známé mutace s využitím cílených testů pro detekci mutací na bázi RT PCR; je žádoucí, aby země formulovaly jednoznačné postupy jejich používání.

1.2. Definice variant

WHO vydala pracovní definice variant vyvolávajících zájem a variant vzbuzujících obavy pro SARS-CoV-2. Tyto definice mohou být pravidelně aktualizovány. Nejnovější definice a seznam nejnovějších VOI a VOC je uveden na webových stránkách zaměřených na varianty [WHO](#).

1.3. Výstrahy v souvislosti s variantami

Neočekávané trendy nebo signály vyplývající z rutinního epidemiologického sledování (nebo jiných zdrojů) naznačující zvýšený dopad pandemie na veřejné zdraví mohou svědčit o potenciální VOI nebo VOC.

1.3.1. Rutinní epidemiologické sledování

WHO doporučuje, aby do **týdenního epidemiologického sledování** byly zahrnuty přinejmenším následující proměnné:

- Počet potvrzených případů
- Počet pravděpodobných případů
- Počet potvrzených úmrtí
- Počet pravděpodobných úmrtí
- Počet hospitalizovaných jedinců (potvrzený a pravděpodobný)
- Počet propuštěných jedinců (potvrzený a pravděpodobný)
- Počet nakažených zdravotnických pracovníků (potvrzený + pravděpodobný) jako podmnožina celkového počtu případů
- Počet zdravotnických pracovníků, kteří zemřeli v důsledku COVID-19 (potvrzený + pravděpodobný) jako podmnožina celkového počtu úmrtí
- Počet testovaných osob
- Počet osob testovaných pomocí PCR
- Potvrzené + pravděpodobné případy podle věkové skupiny a pohlaví (viz níže)
- Potvrzená + pravděpodobná úmrtí podle věkové skupiny a pohlaví (viz níže)
- Klasifikace přenosu

Doporučují se následující kategorie (v letech): 0–4, 5–9, 10–14, 15–19, 20–29, 30–39, 40–49, 50–59, 60–64, 65–69, 70–74, 75–79 a >80.

Vedle těchto proměnných může rutinní sledování doplnit také sledování obsazenosti JIP a proočkovanost cílových podskupin populace.

Týdenní sledování epidemiologických indikátorů s podrobným geografickým členěním umožňuje včasnou detekci jakékoliv odchylky od trendu nebo nečekaných signálů. Díky tomu je možné v rané fázi zacílit další šetření a odběr vzorků pro sekvenování. Analýza by měla zohlednit opatření v oblasti veřejného zdraví a sociálních otázek, index přísnosti (stringency index) (7) a veškeré další parametry, které by mohly mít dopad na šíření viru (např. masová shromáždění).

Tabulka 1 Příklady indikátorů, výstrah a mezních situací v souvislosti se sledováním onemocnění

Indikátory	Výstraha
Případy	Nárůst / odchylka od trendu
Věkově rozčleněné případy	Nárůst v konkrétních věkových skupinách (mladší 18 let, mladší 65 let; stanoví se na místní úrovni)
Případy onemocnění u zdravotnických a sociálních pracovníků	Nárůst / odchylka od trendu
Smrtnost	Nárůst / odchylka od trendu
Věkově rozčleněná úmrtí	Nárůst v konkrétních věkových skupinách
Hospitalizace / příjem na JIP nebo obsazenost lůžek	Nárůst v konkrétních věkových skupinách
Podíl pozitivních testů	Nárůst / odchylka od trendu

Tyto mezní a prahové situace by měly být upraveny podle místních okolností, možností šetření a požadované senzitivity.

Pokud nejsou zavedeny systémy rutinního sledování hospitalizací nebo příjmů na JIP nebo obsazenosti lůžek, může zvýšená poptávka po kyslíku a ventilátorech indikovat nárůst závažných případů onemocnění, který může nebo nemusí souviset s novou variantou se zvýšenou virulencí. Tyto indikátory je možné sledovat na základě společného monitorování ze strany farmaceutických dodavatelů a dodavatelů biomedicínského vybavení.

Podobně také další šetření vyžadují případy, kdy dojde k nárůstu přenosu nad míru, kterou lze předpokládat s ohledem na úroveň imunity dané populace. Například přetrvávající komunitní přenos v oblastech s vysokou proočkovaností nebo vysokou mírou předchozí nákazy může indikovat přítomnost varianty, která dokáže imunitní odpovědi uniknout. Viz [pokyny ohledně klinické účinnosti vakcín v kontextu nových variant SARS-CoV-2](#).

Pokud jsou zavedeny robustní protokoly pro šetření případů a trasování kontaktů, může podobný signál vyplynout také z rostoucího podílu kontaktů, z nichž se stanou případy (tj. neočekávaně vysoká míra sekundárního přenosu ve srovnání se studiem v podobném prostředí, například v domácnostech).

Trendy v úmrtnosti na nejnížší možné administrativní úrovni mohou odhalit nárůst úmrtnosti v konkrétních populacích a je možné odhadnout smrtnost, pokud jsou rovněž dostupná data vyplývající ze sledování případů a pokrývající stejný časový úsek a geografickou oblast (viz [Stručná vědecká zpráva o smrtnosti](#)). Nárůst smrtnosti může vyžadovat další zkoumání na základě charakteristiky genomu, i když trendy v oblasti úmrtnosti jen s nízkou pravděpodobností odhalí závažnější variantu, nedojde-li k drastické změně v oblasti smrtnosti. Indikátorem vyšší závažnosti onemocnění může být rovněž rozdělení trendů úmrtnosti a výskytu onemocnění (tj. vyšší než předpokládaná úmrtnost pro daný výskyt).

1.3.2. Sledování na základě jednotlivých událostí

Zprávy o rychle se šířících epidemiích ve zdravotnických zařízeních nebo komunitách mohou vzbuzovat obavy, že tyto situace jsou dány variantou, která se z člověka na člověka šíří snáze. Podobné zprávy týkající se populací, u nichž se předpokládá vysoká úroveň imunity (v důsledku předchozí nákazy nebo vysoké proočkování), mohou indikovat přítomnost varianty, která je schopna uniknout imunitní odpovědi.

Epidemie způsobující nečekaně vysokou úroveň nemocnosti a úmrtnosti (kterou nelze vysvětlit na základě demografie a stávajících onemocnění zasažené populace, řízením klinických případů nebo kapacitou nemocnic, nedostatkem zdravotnického materiálu nebo jinými faktory) může být způsobena variantou způsobující závažnější onemocnění.

V závislosti na kapacitě mohou tyto zprávy dát podnět k terénnímu výzkumu. Vzorky odebrané v rámci tohoto výzkumu mohou být pro sekvenování prioritou.

Další šetření si rovněž mohou vyžádat nahlášené klastry případů respiračního onemocnění splňující definici suspektního nebo pravděpodobného případu COVID-19, ale s negativním testem na SARS-CoV-2 bez alternativní klinické diagnózy.

1.3.3. Sledování prostředí

Pokud jsou zavedeny systémy sledování odpadních vod, pokud jde o RNA SARS-CoV-2, mohou být využity pro sledování variant. Virová RNA může být sekvenována přímo z odpadních vod a může představovat časnou indikaci toho, zda dochází k přenosu známé VOC. Existuje řada konkrétních příkladů genomového sekvenování SARS-CoV-2 v odpadních vodách, při němž byly odhaleny varianty vzbuzující obavy, (8,9),(10), ale časové a kvantitativní souvislosti s komunitním přenosem vyžadují další zkoumání (11).

1.4. Strategie pro odběr vzorků

Strategie pro odběr vzorků se budou lišit v závislosti na národních cílech pro sledování variant. Primární cíle mohou být mimo jiné následující:

- a) detekce variant, které jsou v oběhu jen v nízké míře
- b) sledování relativní prevalence variant v průběhu času a v rámci geografických oblastí
- c) zkoumání konkrétních případů, které jsou relevantní pro veřejné zdraví.

Obecně je možné cíle a) a b) naplnit prostřednictvím rutinního sledování randomizovaného vzorku. Cíl c) vyžaduje cílený vzorek.

U zemí s vysokou kapacitou pro sekvenování by měly prioritními cíli být cíle a) detekce variant; a b) sledování relativní prevalence variant. Země s nízkou kapacitou pro sekvenování by se měly zaměřit na cíl b) sledování relativní prevalence variant.

1.4.1. Odběr reprezentativních vzorků pro rutinní sledování

Randomizovaný odběr reprezentativních vzorků je možné definovat jako výběr podmnožiny konkrétní cílové populace, která je reprezentativní pro cílovou populaci jako celek. Kritéria pro reprezentativnost vzorku by měla zahrnovat přinejmenším věk, pohlaví, klinické spektrum a geografické rozložení.

Hlavní aspekty systémů sledování uvedené v dokumentech WHO (např. [pokyny pro GISRS](#)) zůstávají relevantní, a to zejména: systematický odběr vzorků, geograficky relevantní a udržitelný odběr vzorků s pravidelnou frekvencí; odběr vzorků reprezentativní populace; a zajištění včasného sekvenování a analýzy vzorků.

Při realizaci genomového sledování je důležité zohlednit časový interval mezi nákazou a dostupností sekvenčních dat. Nedostatečná včasnost těchto údajů je dána mimo jiné prodlevou mezi odběrem vzorků a jejich přijetím ze strany laboratoře provádějící sekvenování; dobou zpracování v laboratoři; bioinformatickou analýzou; a dobou potřebnou pro poskytnutí dat orgánům veřejného zdraví nebo zveřejnění sekvenčních dat ve veřejných databázích. Je třeba usilovat o to, aby byly kroky v jednotlivých fázích co nejvíce včasné. Rutinní odběr vzorků pro sledování v pevně stanoveném, opakovaném časovém intervalu zajistí pravidelnou aktualizaci neaktuálních dat. Vzhledem k tomu, že relativní prevalence variant se může rychle měnit, doporučuje se pravidelný odběr vzorků, ideálně s týdenní frekvencí. Díky tomu budou mít vzorky také vysokou dynamickou reprezentativnost.

Metoda výběru reprezentativního vzorku se může v jednotlivých zemích lišit a může být dána místními systémy sledování, ať už je rutinní, nebo ověřovací, jako například síť ověřovacích pracovišť GISRS pro onemocnění podobná chřipce / závažné akutní respirační infekce (ILI/SARI). Vzhledem k tomu, že výskyt se může rychle měnit, může být odběr vzorku od stanoveného počtu případů (na rozdíl od stanoveného podílu případů) logisticky proveditelnější pro odevzdávající a sekvenující laboratoře, pokud jde o predikci požadavků a standardizaci protokolů.

Tabulka 2: Senzitivita a specifická strategie v oblasti sekvenování

	Positivita	Negativita
1- Randomizovaný odběr vzorků	Vysoká senzitivita	Značná velikost vzorku: výzva z hlediska kapacity
2- Pevně stanovený vzorek z ověřovacích pracovišť	Praktičnost z provozního hlediska; v případě stabilního odběru může být možné sledovat trendy obíhajících variant	Nízká senzitivita Nízká reprezentativnost (geografická, populační)

1.4.1.1. Metodologie odběru vzorků

Výpočty velikosti vzorků předpokládají, že vzorky jsou odebírány náhodně, a proto budou pravděpodobně reprezentativní, přičemž se předpokládá, že pozitivní vzorky jsou samy o sobě skutečným odrazem míry infekce. Pokud jsou diagnostické případy reprezentativním vzorkem všech případů COVID-19, protože diagnostické pokrytí je v celé zemi rovnoměrně rozmístěno, může pro přiměřenou reprezentativnost stačit neupravený vzorek pozitivních odběrů identifikovaný prostřednictvím klinického systému.

V mnoha zemích je však diagnostické pokrytí nerovnoměrné vzhledem k nerovnostem v přístupu ke zdravotní péči a diagnostice nebo rozsáhlému využívání trasování kontaktů pro identifikaci případů. Není-li diagnostické pokrytí rovnoměrně rozloženo, může tuto situaci částečně kompenzovat, je-li vzorkům přidělena různá váha. Toho je možné dosáhnout tak, že oblasti s nižším diagnostickým pokrytím odevzdají více vzorků než oblasti s dostupnými diagnostickými kapacitami.

Mezi možnosti, jak dosáhnout reprezentativního vzorku, patří systematický odběr vzorků (výběr vzorků v pravidelných intervalech) a náhodný odběr vzorků (náhodně generovaný výběr). Výběr metody by měl být validován srovnáním distribuce kritérií reprezentativnosti (např. věk, pohlaví, klinické spektrum a geografické rozložení) napříč vzorkem.

Pokud je obtížné získat skutečně reprezentativní vzorek, může cennou platformu představovat ověřovací sledování na pracovištích, které jsou již součástí ILI, ARI nebo SARI. Shromáždění standardního počtu vzorků z ověřovacích pracovišť spíše než snaha o geografickou „reprezentativnost“ může vést k vyšší stabilitě a zlepšit kvalitu vzorků a s nimi spojených metadat, čímž se zajistí srovnatelnost v průběhu času a možnost sledování trendů. V závislosti na stávajících ověřovacích pracovištích však tato strategie může vést ke zkresleným odhadům relativní prevalence variant a vyloučení některých populací nebo konkrétních prostředí.

Metodologie odběru vzorků by měla být zdokumentována a zohledněna při analýze a interpretaci dat.

1.4.1.2. Výpočet velikosti vzorků

• Randomizovaný odběr reprezentativních vzorků

Nejrůznější nástroje pro výpočet velikosti vzorků (12,13) mohou pomoci zpřesnit počet vzorků z reprezentativního vzorku, které je třeba podrobit genomovému sekvenování pro detekci variant, které jsou v oběhu jen v nízké míře, se stanovenou mírou spolehlivosti. Vzhledem k tomu, že kapacita pro sekvenování je v jednotlivých zemích velmi různá a velikost vzorku, jíž je možno dosáhnout, může silně záviset na kapacitě, je možné používat tyto nástroje pro výpočet velikosti vzorků pro „zpětný výpočet“ míry spolehlivosti a přesnosti dostupných sekvenčních dat.

ECDC vydal [podrobné pokyny](#) ohledně výpočtu velikosti vzorků pro odhalení a sledování podílu variant, které jsou v oběhu v nízké míře, včetně tabulek znázorňujících požadovanou velikost vzorku v různých situacích a s různými parametry a rovnic, které usnadní následnou replikaci. Při stanovování vzorku je třeba zohlednit mimo jiné:

- úroveň přesnosti / senzitivita pro detekci
 - Varianta, která je v oběhu jen v nízké míře (např. 1 %), bude vyžadovat větší vzorek než detekce varianty, která je v oběhu ve vyšší míře.
 - Detekce změny v relativní prevalenci varianty z 2,5 % na 5 % bude vyžadovat větší vzorek, než je vzorek nezbytný pro detekci změny z 2,5 % na 10 %.
- požadovaná úroveň spolehlivosti (např. 95% spolehlivost)
- úroveň přenosu v rámci země (bude třeba větší vzorek, pokud je výskyt vysoký a virem SARS-CoV-2 je nakaženo mnoho lidí)
- interval odběru vzorků (pravidelný, rutinní testování každý týden, každé dva týdny nebo každý měsíc) je nutný, protože relativní prevalence jednotlivých variant se může rychle měnit.

Požadovaná senzitivita pro detekci variant, které jsou v oběhu jen v nízké míře, změny v relativní prevalenci variant a úroveň spolehlivosti zjištění vyplývajících ze sledování podléhají rozhodnutím na úrovni dané země. Obecně platí, že pro účely veřejného zdraví může být senzitivita pro detekci variant, které jsou v oběhu jen v nízké míře, primárním faktorem ovlivňujícím rozhodnutí ohledně velikosti vzorku, protože význam detekce varianty, která nebyla detekována dříve, pro veřejné zdraví může být větší než v případě detekce mírné změny v relativní prevalenci dané varianty. Kromě toho jsou odhady potřebné velikosti vzorku pro monitorování relativní prevalence komplikovány řadou různých variant, které v populaci obíhají.

Tabulka 3: Velikosti vzorků nezbytné pro detekci výrazné změny relativní prevalence (s 95% spolehlivostí)

Počet infikovaných SARS-CoV-2 zachycených týdně	Velikost vzorku založená na rozdílu v podílu určité varianty, v mezitýdenním srovnání	
	Od 2,5 % do 5 %	Od 2,5 % do 10 %
> 100000	725	129
10 001–100 000	705–720	129
5 001–10 000	676	128
2 501–5 000	634	126
1 000–2 500	563	123
500–1 000	421	115
<500	296	103

Jak je popsáno výše, identifikace a sekvenování skutečně náhodného vzorku je obtížné. Pokud jsme si však dobře vědomi zkreslení, je možné výsledky sekvenování upravovat, takže odhady prevalence jsou ve výsledku méně zkreslené. Kromě toho vzhledem k nevyhnutelné prodlevě mezi odběrem vzorku a dostupností výsledků sekvenování mohou přístupy založené na modelování znázornit aktuální stav relativní prevalence varianty na základě dostupných sekvenčních dat a míry nárůstu jednotlivých variant, viz [CDC MMWR](#) (15) a Galloway et al. on the emergence of Alpha (B1.1.7) (16).

- **Pevně stanovené velikosti vzorku**

V zemích s minimální kapacitou laboratoří představuje sekvenování minimálně 15 vzorků týdně na ověřovacích pracovištích výchozí bod, na němž je možné stavět ([WHO GISRS 2021](#)). CDC Afrika a iniciativa Pathogen Genome Initiative (PGI) mají za cíl shromáždit náhodný vzorek alespoň 50 pozitivních vzorků z jednotlivých zemí týdně, a chtějí tak vytvořit udržitelný, rutinní rámec pro odběr vzorků v afrických zemích (14), zatímco [Regionální kancelář WHO pro Ameriku / Panamerická zdravotnická organizace \(PAHO\) doporučují](#), aby jednotlivé země sekvenovaly alespoň 50 pozitivních vzorků měsíčně. Toto zhruba odpovídá detekce alespoň jednoho vzorku varianty, která má 5% prevalenci ve stanoveném intervalu odběru vzorků. Je-li velikost vzorku pevně stanovená, je možné úroveň spolehlivosti v souvislosti s nemožností detekovat konkrétní variantu zpětně vypočítat (12).

1.4.2. Cílený odběr vzorků

Cílené sekvenování vzorků, u nichž je již před testováním vysoká pravděpodobnost VOI nebo VOC, může být vedle výše uvedených strategií rovněž přínosné.

Mezi potenciální faktory hovořící pro cílené sekvenování pro účely sledování patří následující (viz oddíl 3.3):

- charakteristika na úrovni vzorku [např. genomové sekvenování na základě výsledků screeningových testů, jako je test pro detekci jednonukleotidového polymorfismu (SNP) prostřednictvím PCR]
- charakteristika na individuální úrovni (např. klinická charakteristika; pacienti s narušenou imunitou a selektivní sekvenování v případě nákazy i přes očkování)
- charakteristika prostředí (např. důkazy o variantních sekvencích vyplývající ze sledování odpadních vod).

1.4.2.1. Charakteristika na úrovni vzorku

Nyní je k dispozici řada primerů RT-PCR a vzorků specifických pro mutace společné pro VOC (17) (18). Tyto testy jsou založeny na detekci jednoho nebo více jednonukleotidových polymorfismů (SNP), které jsou charakteristické pro konkrétní varianty nebo sdílené napříč více variantami a u nichž se často předpokládá, že přispívají ke změně fenotypu. Tyto mutace však mohou být přítomny i u jiných variant než u VOC, takže pro definitivní určení varianty je nezbytné genomové sekvenování.

Přístupy založené na PCR a následném celogenomovém sekvenování (WGS) mají řadu výhod. Zaprvé, RT-PCR jsou snáze dostupné a méně nákladné než sekvenování, a je možné je proto realizovat v širší geografické oblasti ve větším objemu. Zadruhé, výsledky RT-PCR mohou přinášet informace dříve než WGS, které často vyžaduje přepravu vzorku do referenční laboratoře. Zatřetí, pokud je aplikováno na větší vzorek než WGS, může PCR pre-screening umožnit detekci varianty, která je v oběhu s nízkou relativní frekvencí.

Omezení sekvenování na vzorky, u nichž proběhl pre-screening prostřednictvím testů SNP RT-PCR, však má svá omezení. Zaprvé, testy PCR jsou zkreslené ve prospěch mutací charakteristických pro známé VOC, a proto pravděpodobně neposkytnou reprezentativní obrázek o všech variantách v oběhu. Podobně pokud známá varianta získá nové mutace, na něž necílí konkrétní používaný test SNP PCR, nebudou tyto mutace odhaleny. Zadruhé, pokud se pro odhad podílu variant používají veřejné databáze a pre-screening pomocí PCR zkresluje vzorky, které podstupují WGS a jsou následně nahrávány do databází, mohou být veřejně dostupná data zkreslenější. Zatřetí, pre-screening pomocí PCR může oddálit získání výsledků z genomového sekvenování. Dále pak pokud se WGS provádí na podmnožině vzorků, které již prošly pre-screeningem pomocí SNP PCR a použity pro detekci a sledování dalších variant, je třeba popsat výpočet předpokládané prevalence upravit jej v souvislosti s předpokládaným zkreslením.

1.4.2.2. Charakteristika na individuální úrovni

Některé varianty mají fenotypické charakteristiky, které potenciálně vzbuzují obavy vzhledem k tomu, že se snáze šíří z člověka na člověka, způsobují závažnější průběh onemocnění nebo tlumí dopad oblasti veřejného zdraví a sociálních otázek, diagnostiky, léčiv a vakcín.

Fenotypické charakteristiky, které dokážou identifikovat kliničtí pracovníci a orgány veřejného zdraví, mohou být použity pro prioritizaci vzorků pro genomové sekvenování. Patří mezi ně vzorky:

- případů nákazy SARS-CoV-2 u osob s dokončeným očkováním,
- případů nákazy SARS-CoV-2 u osob, které nákazu již prodělaly,
- případů, kde je nečekaný nesoulad mezi diagnostickými testy, například v klastrech jedinců s pozitivním rychlým antigenním testem ale negativním RT-PCR testem (nebo naopak); kde dochází k charakteristickému a opakovanému výpadku u jednoho genového cíle v PCR testu s více cíli; nebo kde existuje diskrepance ve výsledcích testů u analyzovaných kompartmentů (např. horní versus dolní cesty dýchací)
- skupin pacientů se stávajícími onemocněními, která zvyšují pravděpodobnost prodloužené replikace a vylučování viru, jako například pacientů s narušenou imunitou (19–21)
- klastrů případů s neobvyklými klinickými projevy (např. neobvykle závažné onemocnění, neobvyklé příznaky)
- klastrů případů svědčících o zoonotickém přenosu (např. u osob pracujících se zvířaty náchylnými k nákaze SARS-CoV-2)
- případů se nečekaně slabou reakcí na léčiva.

Případně je možné pro prioritizaci vzorků použít epidemiologické charakteristiky, jako jsou předešlé cesty, zejména nedávné cestování do oblastí s vysokým výskytem známé VOC (22).

1.4.2.3. Charakteristika prostředí

Detekce variantních sekvencí v odpadních vodách může upozornit na oběh konkrétní varianty a napomoci dalšímu cílenému šetření a sekvenování v dané geografické oblasti (např. neformální osídlení) nebo prostředí (např. vězení, zařízení dlouhodobé péče, osobní loď) tam, kde by randomizované sekvenování mohlo být problematické.

1.5. Metadata pro genomové sledování

Všechny sekvence by měly být spojeny s minimálními příslušnými informacemi označovanými jako metadata, která jsou popsána v [Genomové sekvenování SARS-CoV-2: průvodce implementací pro maximální dopad na veřejné zdraví WHO](#).

Vedle metadat popsaných v dokumentu výše jsou pro hloubkové epidemiologické analýzy cenné další proměnné umožňující charakteristiku variant a rizika, které představují pro veřejné zdraví. Identifikace těchto proměnných bude pravděpodobně vyžadovat zapojení různých klíčových aktérů v různorodých klinických systémech a systémech veřejného zdraví (např. zdravotní záznamy, diagnostická laboratoř, služby očkování) a ne všechny vzorky budou pravděpodobně mít všechna související metadata. Veřejné sdílení dat napříč systémy však usnadní rychlé a komplexní hodnocení variant SARS-CoV-2.

V tabulce 4 níže jsou popsány tři vrstvy metadat s klesající prioritou:

- **Nejvyšší prioritita:** Základní metadata by vždy měla obsahovat přinejmenším datum a místo odběru vzorku (země a stát nebo provincie). Informace o místě a času odběru vzorku jsou nezbytné pro sledování šíření variant. Dalšími minimálními požadavky jsou původní diagnostická laboratoř, laboratoř provádějící sekvenování a hostitelský druh (člověk versus zvíře).
- **Druhá nejvyšší prioritita:** Druhá vrstva metadat – která je zásadní pro další výzkum charakteristik – je popisná. Vnější kontext do informací o genomové sekvenci a cílech sekvenování. Bez ohledu na použitou strategii pro odběr vzorků druhá vrstva metadat zahrnuje charakteristiku pacienta (věk, pohlaví, rasa a etnikum, podle potřeby) a epidemiologickou charakteristiku (např. datum expozice a nástupu příznaků) v souvislosti s VOC nebo VOI.
- **Třetí nejvyšší prioritita:** Třetí vrstva, kterou představují metadata pro charakteristiku, je nejužitečnější pro analytickou práci v tom smyslu, že charakterizuje riziko pro veřejné zdraví u konkrétní varianty. Příkladem proměnné zde může být diagnostický test použitý pro identifikaci laboratorně potvrzeného případu, hodnota prahového cyklu (Ct), markery klinické závažnosti, případné očkování, komorbidity pacienta, počet sekundárních případů na jeden případ, předešlé cesty, souvislost se známou epidemií nebo klastrem nebo místo expozice, expozice potenciálně nebo prokazatelně nakaženým zvířatům, dřívější nákaza SARS-CoV-2 a zaměstnání zdravotnického pracovníka. Tato pokročilá metadata mohou být k dispozici pouze v některých kontextech, ale výrazně zvyšují možnosti charakteristiky rizika.

Při nahrávání příslušných metadat do veřejných databází je třeba dbát na to, aby nebyla sdílena metadata umožňující identifikaci konkrétního jedince. Může být vhodné ve veřejných databázích sdílet méně dat než v zabezpečených databázích provozovaných a analyzovaných orgány veřejného zdraví.

Tabulka 4: Doporučená standardní metadata, která by měla doprovázet sekvenční data o SARS-CoV-2

Metadata	Označení	Podrobnosti	Potenciální analýzy
1. vrstva: Základní metadata	Vzorové identifikační číslo		
	Vzorový typ	Například: „sputum“, „krev“, „sérum“, „sliny“, „stolice“, „výtěr z nosohltanu“, „odpadní vody“	
	Datum odběru vzorku		Míra zavlečení a evoluce
	Země odběru		Cesty zavlečení a přenosu pomocí BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Tree)
	Stát/provincie odběru		
	Původní diagnostická laboratoř	Kde byl klinický vzorek nebo izolát viru poprvé získán	
	Laboratoř dodávající sekvenci	Kde byla vygenerována sekvenční data	Hodnocení sekvenční kapacity
	Metoda odběru vzorků	Součást rutinního sledování nebo cíleného odběru vzorků, reprezentativní nebo cílený odběr vzorků	
	Hostitel	např. člověk, zvíře (konkrétní), prostředí, neznámé	Cesta přenosu
2. vrstva: Deskriptivní metadata	Věk		Rizikové faktory
	Pohlaví	např. muž, žena, jiné, neznámé	Rizikové faktory
	Rasa a/nebo etnikum*		Rizikové faktory
	Status zdravotnického pracovníka	např. ano, ne, neznámé Definice zdravotnického pracovníka viz Protokol dohledu pro zdravotnické pracovníky	Cesty přenosu, rizikové faktory
	Předešlé cesty	Místo(a) a čas	Cesty zavlečení a přenosu
3. vrstva: Metadata pro charakteristik u	Použitý test RT-PCR (byl-li použit)		
	Hodnota RT-PCR Ct (byla-li stanovena)		
	Symptomatický případ	např. ano, ne, neznámé	Analýza závažnosti
	Případné očkování (u lidí)	Datum očkování (1. dávka a/nebo 2. dávka, je-li třeba), typ vakcíny, zdroj informací (zdokumentované důkazy, jako je vakcinační rejstřík nebo očkovací průkaz versus stažení vakcíny)	Selhání vakcíny
	Datum nástupu příznaků		Prodleva mezi nástupem a předložením sekvence
	Případná hospitalizace	např. v minulosti hospitalizován, nikdy nehospitalizován, neznámé	Analýza závažnosti
	Hospitalizace na jednotce intenzivní péče	např. ano, ne, neznámé	Analýza závažnosti
	Mechanická ventilace	např. ano, ne, neznámé	Analýza závažnosti
	Výsledek	Úmrtí/zotavení	Analýza závažnosti
	Nákaza SARS-CoV-2 v minulosti a její datum		Riziko opětovné nákazy
	Podaná léčiva	Specificky pro COVID-19	Selhání podaných léčiv
	Místo expozice, souvislost se známým klastrem/epidemií		Analýza klastru/epidemie, cesty přenosu
	Kontakt se známým zvířecím rezervoárem	např. ano, ne, neznámé; a typ(y) zvířat	Cesta přenosu
Komorbidity	Uveďte komorbidity, u nichž je známo, že zvyšují závažnost průběhu COVID-19	Rizikové faktory	

* Tato položka by měla být využívána v závislosti na místním kontextu a konkrétním zákonům o sběru dat

2. Charakteristika variant SARS-CoV-2

Pro přesnou charakteristiku rizik variant SARS-CoV-2 je nezbytná kombinace laboratorní vědy a podrobných epidemiologických šetření. Tyto studie jsou však náročné na zdroje a často vyžadují kombinaci finanční podpory a technické odbornosti, která nemusí být vždy k dispozici. V prostředí s omezenými zdroji tak může být třeba si v rámci těchto charakteristik stanovit priority. Izoláty jednotlivých variant by měly být urychleně sdíleny s referenčními laboratořemi, které by umožnily jejich molekulární a virologickou charakteristiku. Včasné sdílení výsledků charakterizačních studií s WHO a veřejností je zásadní pro globální porozumění novým variantám.

V prostředí s omezenými zdroji mají nejvyšší dopady v oblasti charakterizace rutinní systémy sledování.

Speciální studie mohou rovněž přinést cenné důkazy překračující závěry vyvozené z dat získaných sledováním, včetně laboratorních studií.

V tabulce 5 níže jsou uvedeny stávající metody pro specializované šetření a charakteristiku variant, jako například analýza neutralizačního působení nebo studie na zvířecích modelech, epidemiologické studie transmisibility v rámci domácností a studie průběhu onemocnění. Cílem této tabulky je pomoci členským státům prioritizovat charakterizační studie v souvislosti s rizikem pro veřejné zdraví.

Tabulka 5: Metody zkoumání a charakterizace nových variant, přičemž studie s nejvyšší prioritou jsou znázorněny modře.

Doména rizika pro veřejné zdraví	Charakteristika	Epidemiologická šetření		Laboratorní šetření	
		Důkazy vyplývající ze sledování	Epidemiologické studie	In vitro	In vivo
Transmisibilita	Riziko nákazy	Trendy vyplývající ze sledování ohledně srovnávání variant (Rt), dat vyplývajících z trasování kontaktů (míra sekundární infekce)	Studie o přenosu v domácnosti	Afinita (ACE-2)	Zvířecí modely
	Zvířecí rezervoár* a náchylnost vůči infekcím		Prvních několik případů X (FFX), sledování zvířat a šetření		Zvířecí modely
	Průběh onemocnění (inkubace, nástup příznak, vylučování viru, symptomatické versus asymptomatické případy)	Trasování kontaktů (doba od expozice do nástupu příznaků / přenosu)	Prvních několik případů X (FFX): klinické sledování, Kohortové studie	Opakované testování RT-PCR v průběhu onemocnění Kultivace viru	Zvířecí modely
Klinický průběh	Známky a příznaky (souvislost s definicí případu)		Případy FFX: známky a příznaky, Senzitivita a specifická klastrů příznaků	Srovnání detekce ze vzorků z horních cest dýchacích (URT) versus z dolních cest dýchacích (LRT)	Zvířecí modely
	Závažnost	Věkově rozčleněné případy, smrtelnost, míra hospitalizace	Následné sledování prvních několika případů: hospitalizace, smrtelnost		Zvířecí modely
Selhání potvrzení laboratorní diagnostikou	Diagnostická detekce			Selhání RT-PCR nebo jiné diagnostické metody	
Neutralizace	Neutralizace (pseudo)viru prostřednictvím monoklonálních protilátek			Neutralizace monoklonálními protilátkami a koktejlem protilátek	
	Neutralizace (pseudo)viru polyklonálními protilátkami (sérum)		Studie klinické účinnosti vakcíny (případové kontrolní studie s negativním testem)	Rekonvalescentní séra Očkovací séra	
	Délka imunity		Následné sledování případů FFX Sérologické studie		

Pozn. Pro některé z těchto studií bude nezbytné vybudovat (mezi)národní partnerství mezi orgány veřejného zdraví a akademickou sférou. Ne všechny orgány veřejného zdraví / laboratoře by měly budovat všechny tyto kapacity.

* se zaměřením na roli zvířecího rezervoáru v přenosu na člověka

2.1. Laboratorní studie

2.1.1. Mutace a důkazy o souvisejících fenotypových účincích

Intenzivní genomové testování na celém světě odhalilo řadu nových variant SARS-CoV-2, které sdílejí stejné mutace nebo konstelace (tj. kombinace mutací) a vznikly nezávisle na sobě. Některé z těchto mutací mohou viru propůjčit fenotypovou výhodu a jejich vzájemně nezávislý vznik může představovat konvergentní evoluci. Byla zavedena řada iniciativ pro sledování a vizualizaci variant a/nebo mutací SARS-CoV-2 a jejich účinků, jak je uvedeno v příloze 2.

S tím, jak jsou objevovány nové varianty, je možné odvodit některé aspekty jejich fenotypu a s nimi spojená rizika pro veřejné zdraví na základě jejich genomové sekvence, tj. přítomnosti, respektive nepřítomnosti konkrétních mutací.

Konečný odhad rizika pro veřejné zdraví v souvislosti s variantami by měl zahrnovat důkladné přezkoumání všech dostupných laboratorních a epidemiologických důkazů, ale je možné prioritizovat i další charakterizační studie podle toho, jaký je očekávaný dopad známých mutací. V příloze 3 jsou shrnuty aktuální důkazy spojené s některými významnými mutacemi a jejich fenotypovým účinkem.

2.1.2. Souhrn laboratorních šetření

Relevantní laboratorní šetření se snaží porozumět tomu, jak se konkrétní varianty chovají, zejména v souvislosti s veškerými změnami v jejich replikaci nebo detekci ze strany imunitního systému. Patří mezi ně následující:

- 1) hodnocení účinnosti protilátek (buď od jedinců, kteří byli v minulosti nakaženi SARS-CoV-2 nebo byli proti viru očkováni, nebo od jedinců, u nichž se uvažuje o podání léčiv) pro neutralizaci vstupu konkrétní varianty do buňky;
- 2) stanovení afinity varianty k receptoru ACE-2, který je nezbytný pro vstup do buňky a replikaci; nebo
- 3) sledování množství viru (virové nálože) v různých typech vzorků nebo v průběhu času v rámci přirozené nákazy. Specializované laboratoře mohou rovněž zkoumat virovou replikaci, přenos a celkovou nemocnost a úmrtnost s využitím zvířecích modelů.

A konečně nejsnazší pro monitorování je sledování toho, jak přesně současné diagnostické testy dokážou odhalit konkrétní variantu. Laboratoře v rámci veřejného zdraví by měly sledovat selhání RT-PCR testů nebo jiné nečekané změny ve výkonnosti testů, což může znamenat, že je v oběhu určitá varianta.

2.2. Epidemiologické důkazy

Hlavním zdrojem epidemiologických důkazů jsou data z rutinního sledování; jsou-li data ze sledování nedostačující, pak terénní epidemiologické studie.

2.2.1. Data z rutinního sledování

Data z rutinního sledování mohou v kombinaci s daty ze sledování genomu přinášet cenné informace o možném fenotypu jednotlivých variant. WHO doporučuje, aby byla základní sada proměnných hlášena každý týden v [souhrnném formátu](#) v rámci [sledování veřejného zdraví v souvislosti s COVID-19 \(viz oddíl 3.3\)](#).

Vedle tohoto souhrnného formátu je možné zachytit řadu cenných epidemiologických charakteristik v rámci případové zprávy do [formuláře pro případovou zprávu WHO v souvislosti s COVID-19](#) nebo do [formuláře pro klinickou případovou zprávu WHO](#). Dostupnost a úplnost relevantních dat ze sledování a výsledná schopnost charakterizovat nové varianty se bude v jednotlivých zemích lišit. Pokud systémy sledování rutinně zachycují doporučené informace, mohou být tato data propojena se sekvenčními daty. Následně je možné na základě srovnání dat o pacientech, klinických dat a epidemiologických dat napříč variantními i nevariantními případy odhadovat vlastnosti fenotypu.

I když nejsou informace o variantách na individuální úrovni k dispozici, je možné využít geografické a demografické souvislosti mezi výskytem a podílem variant pro vyvození vlastností viru, pokud je relativní prevalence různých variant známa na úrovni populace. Je-li známo relativní zastoupení jednotlivých variant, je možné použít matematické modely pro odhadnutí změn v transmisibilitě a závažnosti na základě dat ze sledování (35).

Usouvztažení informací o variantách s informací o případném očkování (včetně typu vakcíny) nebo o prodělané naze – nebo provedení cíleného odběru vzorků od očkovaných, a přesto nakažených případů a případů opětovné nákazy pro srovnání informací o variantách napříč jednotlivými případy – může indikovat schopnost varianty vyhnout se odpovědi imunitního systému. Pokud se používají jak případové systémy sledování, tak registry vakcín, jsou tyto analýzy na základě různých zdrojů dat možné.

2.2.2. Terénní epidemiologické studie

I když nejrychlejší epidemiologické důkazy vyplývají ze stávajících dat ze sledování, mohou terénní epidemiologická šetření přinášet cenné důkazy. Kvalitních terénních epidemiologických a klinických dat o nových variantách je málo, a přitom jsou tato data zásadní pro posouzení skutečného dopadu variant. Epidemiologické studie variant by měly být prioritizovány na základě prostředí (např. konkrétní varianty nebo konkrétní populace), kde je možné ve velké míře zobecňovat, a zjištění tak budou mít s vysokou pravděpodobností obecnou relevanci.

Většina epidemiologických charakterizačních studií funguje nejlépe, jsou-li data spojená s novými variantami SARS-CoV-2 přímo srovnávána s existujícími variantami v oběhu (tj. než se nová varianta stane dominantní), pokud mají stávající varianty evoluční výhodu. V případě, že jsou charakterizační studie prováděny poté, co se zkoumaná varianta stane dominantní, a je proto těžké

do studie zapojit nevariantní případy, mohou k vhodnému srovnání posloužit historická data, i když tato data mohou být zavádějící v důsledku změn ve strategiích v oblasti veřejného zdraví (např. změna způsobu šetření případů a rámců pro trasování kontaktů nebo jiná opatření).

WHO ve spolupráci s technickými partnery vyvinula řadu standardizovaných epidemiologických výzkumných protokolů označovaných jako [studie Unity](#). Cílem těchto studií je podpořit národní veřejná zdravotní a sociální opatření, podporovat mezinárodní srovnatelnost výzkumů a zaměřit se na nedostatky v našich současných znalostech o pandemii COVID-19. Řadu studií Unity je možné použít při výzkumu nových variant.

Prvních několik případů X (FFX)

Primárním cílem šetření FFX mezi případy a blízkými kontakty je popsat a odhadnout následující:

- klinické projevy nákazy SARS-CoV-2 a průběh příslušného onemocnění
- míra sekundární infekce (SIR) a sekundárních klinických atak v případě nákazy blízkých kontaktů SARS-CoV-2
- sériový interval nákazy SARS-CoV-2
- podíl symptomatických případů COVID-19 (prostřednictvím trasování kontaktů a laboratorního testování)
- identifikace možných cest přenosu.

Šetření může pokračovat tak dlouho, dokud ho realizující země považuje za proveditelné. Dopad nových variant na probíhající studie je třeba hodnotit na individuální bázi. V kontextu nových variant je možné laboratorně potvrzené případy do studie zapojovat retrospektivně, jakmile jsou k dispozici výsledky celogenomového sekvenování a je potvrzena variantní sekvence, nebo je možné je identifikovat na základě charakteristického výsledku diagnostického testu (jako například selhání genu S v testu TaqPath naznačující variantu alfa (B.1.1.7) nebo RT-PCR test specifický pro jednotlivé varianty, je-li k dispozici). Případně je možné případy zapojovat do studií bez znalosti varianty viru a následně je přiřadit k variantní kohortě, jakmile jsou k dispozici výsledky celogenomového sekvenování. Protokol je k dispozici [zde](#).

Studie o přenosu v domácnosti

Zkoumání přenosu v domácnostech je prospektivní studie na základě zjištěných případů u všech identifikovaných kontaktů dané domácnosti v případě laboratorně potvrzené nákazy SARS-CoV-2. Jejím cílem je přinášet rychlé a včasné informace o klinických, epidemiologických a virologických vlastnostech SARS-CoV-2. S ohledem na časovou prodlevu mezi dodáním výsledků celogenomového sekvenování a přiřazením informací o variantě, mohou studie o přenosu variant SARS-CoV-2 v domácnosti čelit řadě stejných výzev jako studie FFX. Mimo jiné je možné zařazovat případy do studie na základě předpokladů spojených s konkrétní lokalitou, přičemž případy jsou následně přiděleny ke konkrétní variantní kohortě, jakmile jsou k dispozici výsledky celogenomového sekvenování; dále je možné případy zařadit na základě charakteristického výsledku diagnostického testu nebo retrospektivně zařadit variantní případy, jakmile jsou k dispozici výsledky celogenomového sekvenování. Dále pak vzhledem k tomu, jak dlouho trvá provedení studie a příslušného genomového sekvenování, mohou být tyto studie použitelné jak pro zdokumentování mechanismu veškerých fenotypových změn, tak pro zdokumentování změn samotných.

Primárním cílem studie o přenosu v domácnosti je vygenerovat významná epidemiologická data, která doplní a podpoří zjištění vyplývající z FFX, včetně dat ohledně následujícího:

- podíl asymptomatických a symptomatických případů
- inkubační doba COVID-19 a délka nakažlivosti a prokazatelného vylučování viru
- sériový interval nákazy SARS-CoV-2
- reprodukční čísla: R_0 a R SARS-CoV-2
- klinické rizikové faktory COVID-19 a klinický průběh a závažnost onemocnění
- vysoce rizikové podskupiny populace
- míra sekundární infekce a sekundárních klinických atak v případě nákazy blízkých kontaktů SARS-CoV-2
- vzorce chování při vyhledávání péče

Délka trvání sběru dat mezi začleněním do studie a ukončením veřejně dostupných studijních protokolů je 28 dnů, ale počáteční výsledky se mohou objevit za několik dnů až týdnů. Počáteční fáze navrhování průzkumu a jeho realizace mohou nějaký čas trvat a mohou být náročné na zdroje. Jednotlivým zemím se doporučuje, aby si předem vybudovaly nouzovou kapacitu pro tyto průzkumy v domácnostech předtím, než je varianta detekována. Protokol je k dispozici [zde](#).

Byl publikován příklad studijního protokolu, který byl použit ve Spojených státech amerických a upraven pro Brazílii (36).

3. Hlášení dat vyplývajících ze sledování variant SARS-CoV-2

Okamžité sdílení informací týkajících se variant SARS-CoV-2 je zásadní pro globální porozumění a kontrolu SARS-CoV-2. WHO vydala průvodce týkajícího se hlášení VOC a VOI (37).

Mezi hlavní kroky členského státu, pokud je identifikována potenciální VOI, patří:

- Informovat WHO prostřednictvím zavedených kanálů pro podávání zpráv státní nebo regionální kanceláře WHO s podpůrnými informacemi o případech souvisejících s VOI (osoba, místo, čas, klinické a další relevantní vlastnosti).
- Odeslat kompletní konsenzuální sekvence genomu a přidružená data do veřejně dostupné databáze, jako je [GISAID](#).
- Provádět terénní šetření za účelem lepšího porozumění potenciálním dopadům VOI na epidemiologii COVID-19, závažnost, účinnost opatření v oblasti veřejného zdraví a sociálních opatření nebo jiné relevantní vlastnosti.
- Provádět laboratorní hodnocení nebo se obrátit na WHO s žádostí o podporu při provádění laboratorních hodnocení dopadu VOI na diagnostické metody, imunitní odpovědi, neutralizační protilátky nebo jiné relevantní vlastnosti.

Hlavní kroky členského státu, pokud je zjištěna VOC:

- Je třeba WHO hlásit první případy/klastry identifikované v členském státě v souvislosti s jakoukoliv VOC pomocí mechanismů Mezinárodních zdravotních předpisů (IHR).
- Odesílat kompletní sekvence genomu a přidružená metadata do veřejně dostupné databáze, jako je GISAID.
- Tam, kde existují kapacity, a v koordinaci s regionálním a mezinárodním společenstvím provádět terénní vyšetřování, abyste zlepšili pochopení potenciálních dopadů VOC na epidemiologii COVID-19, závažnost, účinnost opatření v oblasti veřejného zdraví a sociálních opatření nebo jiné relevantní vlastnosti.
- Provádět laboratorní hodnocení podle kapacit v dané zemi nebo se obrátit na WHO s žádostí o podporu při provádění laboratorních hodnocení dopadu VOC na diagnostické metody, imunitní odpovědi, neutralizaci protilátek nebo jiné relevantní vlastnosti.

V souvislosti se všemi sekvencemi se od členských států očekává následující:

- Sdílet genomové sekvence ve veřejných databázích (např. GISAID).
- Pravidelně publikovat zjištění včetně kontextových informací spojených s konkrétními případy.
- Hlásit WHO prostřednictvím mechanismu IHR první identifikované případy/klastry spojené s VOC.
- Informovat WHO o potenciálních nových VOI/VOC prostřednictvím zavedených kanálů/sítí v rámci kanceláře WHO v dané zemi a regionální kanceláře.
- Uvádět co nejvíce podrobností jako oporu pro hodnocení (např. osoba, místo, čas, klinické důkazy a důkazy o fenotypových účincích).

Následující indikátory se doporučují pro národní hlášení a mezinárodní sdílení v souvislosti s VOI nebo VOC a variantami, které vyvolávají zájem dané země:

Tabulka 6 Indikátory doporučené pro hlášení VOC/VOI

Označení	Popis	Metoda
Datum hlášení WHO	Datum, kdy byl variantní kmen nahlášen WHO prostřednictvím oficiálního kanálu, jako je oznámení IHR, systém varování a reakce v případě mimořádné události, oficiální oznámení nebo neoficiální signál vyplývající ze sledování na základě jednotlivých událostí	Rozdíly v hlášení VOI a VOC viz výše
Datum prvního případu v zemi	Datum, kdy byl v zemi nahlášen první případ variantního kmene (datum nástupu příznaků, je-li možné jej stanovit, nebo datum sekvenčního potvrzení)	
Kvantifikační metoda pro danou variantu	Odběr vzorků u podmnožiny z celogenomového sekvenování, nebo screening cíleným PCR	
Počet variant v sekvenovaných vzorcích (čítatel)	Podíl variantního kmene v celkovém sekvenovaném vzorku	Toto je rovněž možné zjistit prostřednictvím cíleného PCR: počet vzorků pozitivních na cílené PCR
Počet sekvenovaných vzorků (jmenovatel)	Počet sekvenovaných vzorků	Pokud používáme cílené PCR, mělo by se jednat o počet testovaných případů

Relativní zastoupení jednotlivých variant se vypočítá jako **počet sekvencí dané varianty (čítatel)** děleno **celkovým počtem sekvencí vygenerovaných rutinním sledováním (jmenovatel)** za stejnou jednotku času.

I když přítomnost a relativní zastoupení virových variant s těmito vlastnostmi má velký význam pro veřejné zdraví, je důležité rovněž zohlednit, jak tyto informace zapadají do širšího epidemiologického kontextu. Například pokud *zastoupení* případů dané VOC rapidně stoupá, ale celkový počet případů klesá, je možné, že skutečný výskyt VOC v populaci nemusí narůstat. Podobně v případě rostoucího celkového počtu případů může počet případů VOC ve skutečnosti narůstat, i když se jejich podíl snižuje.

Příloha 1. Stávající pokyny pro sekvenování a sledování SARS-CoV-2 od různých institucí

Autor	Název	Nejdůležitější témata	Lab.	Průzk.	Zásady
WHO	SARS-CoV-2 genomic sequencing for public health goals: Prozatímní pokyny z 8. ledna 2021	Pokyny pro tvůrce politik a klíčové aktéry na vnitrostátní úrovni ohledně toho, jak maximalizovat přínosy genomového sekvenování SARS-CoV-2 pro veřejné zdraví	x	x	x
WHO	Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health	Komplexní průvodce implementací sekvenování SARS-CoV-2 pro ty, jež zavádějí program sekvenování	x		
WHO	Operational considerations to expedite genomic sequencing component of GISRS surveillance of SARS-CoV-2	Praktické pokyny pro GISRS a další národní laboratoře ohledně toho, jak se dostat dále než jen k detekci viru, a sice ke genomovému sekvenování materiálu pozitivního na SARS-CoV-2 v rámci programů ověřovacího sledování.	x	x	
WHO	Weekly Epidemiological Update- Special Edition: Proposed working definitions of SARS-CoV-2 Variants of Interest and Variants of Concern	Specifikuje pracovní definice VOI a VOC. Uvádí přehled podpory WHO členskými státy a doporučené kroky pro členské státy v souvislosti s VOI a VOC.		x	x
CDC USA	How CDC is responding to SARS-CoV-2 variants globally	Zdůrazňuje globální reakci CDC na varianty SARS-CoV-2, přináší pravidelné aktualizace a nové informace.	x	x	
CDC USA	Emerging SARS-CoV-2 Variants	Přináší aktuální vědecké informace o nových variantách SARS-CoV-2.	x	x	
ECDC/WHO EVR OPA	Methods for the detection and identification of SARS-CoV-2 variants	Uvádí metody pro detekci variant	x	x	
ECDC	Sequencing of SARS-CoV-2- first update	Technické pokyny pro rozhodování ohledně vytváření kapacit pro sekvenování. Zaměřuje se na technologie sekvenování a proces standardizace pro analýzu/hlášení zjištění.	x		
ECDC	Detection and characterization capability and capacity for SARS-CoV-2 variants within the EU/EEA	Uvádí kapacitu pro detekční a charakterizační sekvenování v zemích EU, konkrétní výzvy a doporučení.	x	x	
ECDC	Risk Assessment: Risk related to the spread of new SARS-CoV-2 variants of concern in the EU/EEA- first update	Informace o rizicích variant SARS-CoV-2 a možnostech reakce na úrovni jednotlivých zemí, včetně doporučení pro konkrétní politiky a opatření.		x	x
ECDC	Risk Assessment: SARS-CoV-2- increased circulation of variants of concern and vaccine rollout in the EU/EEA, 14th update	Aktualizace výše uvedeného dokumentu s dalšími pokyny ohledně opatření a zavádění vakcín.		x	x
ECDC	Guidance for representative and targeted genomic SARS-CoV-2 monitoring	Pokyny ohledně metod odběru vzorků a jejich velikosti		x	
Genome Canada	CanCOGeN Interim Recommendations for Naming, Identifying, and Reporting SARS-CoV-2 Variants of Concern	Obsahuje informace o pojmenovávání variant, konvencích pro identifikaci a konvencích pro hlášení VOC.	x		
WHO PAHO	PAHO Guidance for SARS-CoV-2 samples selection for genomic characterization and surveillance	Poskytuje informace pro země PAHO o laboratorní reakci na SARS-CoV-2 včetně kritérií pro odběr vzorků pro charakterizaci a sledování genomu.	x	x	
CDC Afrika	Africa CDC New SARS-CoV-2 variants in Africa	Informace pro africké země ohledně variant SARS-CoV-2 v Africe a přehled toho, jak VOC ovlivňují konkrétní diagnostické testy.	x		
APHL	Responding to the Coronavirus Disease (COVID-19) Pandemic	Neustále aktualizované informatické a laboratorní pokyny pro COVID-19	x		
Johns Hopkins Center for Health Security	Staying Ahead of the Variants: Policy Recommendations to Identify and Manage Current and Future Variants of Concern	Hodnotí stav sledování, sekvenování, charakterizace variant SARS-CoV-2 v USA a uvádí doporučení, jak navýšit kapacitu, aby bylo možné reagovat na VOC.		x	x

Příloha 2. Nástroje pro sledování variant/mutací

Byla zavedena řada iniciativ pro sledování a vizualizaci variant a/nebo mutací SARS-CoV-2 a jejich účinků, například prostřednictvím diagnostických testů.

Název	Typ informace	Nomenklatura	URL
PANGO lineages	Globální zpráva o nových haplotypech koronaviru včetně map globálního šíření, frekvence a prvotní detekce	Pango	https://cov-lineages.org/
CoVariants	Mutace a varianty vyvolávající zájem / vzbuzující obavy a relevantní literatura	Nextstrain	https://covariants.org/
CovMT	Mutace a varianty se zaměřením na kritické varianty, časová osa nejdůležitějších mutací RBD (klasifikace GISAID)	GISAID	https://www.cbrc.kaust.edu.sa/covmt/
CoV-GLUE	Databáze aminokyselinových substitucí, inzercí a delecí	Pango	http://cov-glue.cvr.gla.ac.uk/ - /home
BV-VRC	Sledování variant vzbuzujících obavy a prohlížeč genomu	Pango	https://bv-brc.org/
COVID-19 Data portal ENA	Relevantní data zahrnující neupravené virové sekvence, hostitelské sekvence apod. a vizualizační nástroje	-	https://www.covid19dataportal.org/
Outbreak.info Mutation Situation Reports	Zprávy o variantách VOC/VOI včetně vizualizací mutací genomu a srovnání mezi variantami, globálním šířením a prevalencí v jednotlivých dnech	Pango	https://outbreak.info/situation-reports
Viroscience Primer Check tool	Nástroj pro kontrolu primerů	-	https://viroscience-emc.shinyapps.io/primer-check/
Pha4ge	Sekvenční protokoly a analytické nástroje	-	https://pha4ge.org/resources/

Příloha 3. Příklady nejdůležitějších společných mutací SARS-CoV-2 ve spike proteinu a důkazy o příslušných fenotypových účincích

Významná mutace	Doména rizika pro veřejné zdraví	Dosud zdokumentované fenotypové účinky	Varianta vzbuzující obavy / varianta vyvolávající zájem
L452R	<i>Transmisibilita</i>	Může zvyšovat neúčinnost prostřednictvím stabilizace interakce s receptorem ACE-2 (pro spike-angiotenzin konvertující enzym-2) a vyvinula se nezávisle na sobě u řady variant (23)	VOC Gama VOI Ióta, kappa, lambda
	<i>Escape protilátek</i>	Snížená neutralizace rekonvalescentní plazmou a monoklonálními protilátkami (mAbs); konkrétně uniká neutralizaci protilátkou, která představuje základ bamlanivimabu, konkrétního léčiva na bázi mAb (24)	
E484K	<i>Transmisibilita</i>	Zvýšená afinita na receptor (ACE-2), přičemž navázání může být stabilizováno přítomností K417N. Má významný dopad na posunutí hlavního místa kontaktu mezi vazebnou doménou pro receptor (RBD) a reziduy ACE-2; in vitro evoluce směrem k většímu navázání na receptor ACE-2 vedla k mutacím S:E484K, S:N501Y a S:S477N, které byly jako první selektovány (25,26)	VOC Alfa beta gama VOI Et a iót a Kappa
	<i>Escape protilátek</i>	Bylo zaznamenáno, že E484K je escape mutace před monoklonální protilátkou, která neutralizuje SARS-CoV-2; kombinace E484K, K417N a N501Y (která je součástí B.1.351 a P.1) indukuje větší konformační změnu než N501Y sama o sobě; k selekci došlo, když byl kultivován virus vezikulární stomatitidy (rVSV)/SARS-CoV-2 S) v přítomnosti vakcínou vyvolaných mAbs (27,28)	
N501Y	<i>Transmisibilita</i>	Vyšší afinita na receptor ACE-2. In vitro evoluce pro posílení vazby na receptor ACE-2 vedla k mutacím S:E484K, S:N501Y a S:S477N, které byly selektovány jako první (25,26,29)	VOC Alfa beta Gama VOI
	<i>Escape protilátek</i>	Objevení a neustálá konvergentní evoluce variant N501Y se kryje s významným globálním posunem, pokud jde o selektivní prostředí SARS-CoV-2. Přesná příčina tohoto selektivního posunu není známa, ale nárůst sérové pozitivivity a/nebo uvolnění opatření pro prevenci přenosu jsou v této souvislosti zjevnými kandidáty. K selekci došlo, když byl kultivován virus vezikulární stomatitidy (rVSV)/SARS-CoV-2 S) v přítomnosti vakcínou vyvolaných mAbs (29)	
K417N	<i>Escape protilátek</i>	V rámci studie mapy escape mutací byla identifikována jako jedna z mutací, která by mohla uniknout rozpoznání ze strany protilátek; k selekci došlo, když byl kultivován virus vezikulární stomatitidy (rVSV)/SARS-CoV-2 S) v přítomnosti vakcínou vyvolaných mAbs; kombinace E484K, K417N a N501Y (která je součástí B.1.351 a P.1) indukuje větší konformační změnu než N501Y sama o sobě (25,27,30,31)	VOC Beta delta gama
P681H/R	<i>Transmisibilita</i>	V bezprostřední blízkosti místa štěpení furinem v místě vazby S1/S2. Posiluje systematickou infekci a fúzi membrán. Ve funkční testovací studii byly spiky obsahující mutace P681H a P681R efektivněji štěpeny a předpokládá se jejich role při zvyšování transmisibility a patogenity (32,33)	VOC Alfa delta VOI Kappa

Reference: [WHO Webpage on variants](#), [CDC webpage: Mutations with Impact on MoABs therapeutics](#), [Covariants](#) and [Outbreak Info](#)

Reference

- Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* [Internet]. 2020 Feb 22 [cited 2021 Apr 21];395(10224):565–74. Available from: <https://www.ncbi>.
- Investigation of novel SARS-CoV-2 variants of concern - GOV.UK [Internet]. [cited 2021 Apr 21]. Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20210201>
- FDA authorizes revisions to fact sheets to address SARS-CoV-2 variants for monoclonal antibody products under emergency use authorization | FDA [Internet]. [cited 2021 Apr 21]. Available from: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-authorizes-revisions-fact-sheets-address-sars-cov-2-variants-monoclonal-antibody-products-under>
- Tracking SARS-CoV-2 variants [Internet]. [cited 2021 Jun 3]. Available from: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
- GISAID - Submission Tracker Global [Internet]. [cited 2021 May 25]. Available from: <https://www.gisaid.org/index.php?id=208>
- COVID-19 Genomic Epidemiology Toolkit | Advanced Molecular Detection (AMD) | CDC [Internet]. [cited 2021 Apr 21]. Available from: <https://www.cdc.gov/amd/training/covid-19-gen-epi-toolkit.html>
- COVID-19: Stay-at-Home Restrictions - Our World in Data [Internet]. [cited 2021 May 25]. Available from: <https://ourworldindata.org/covid-stay-home-restrictions>
- Crits-Christoph A, Kantor RS, Olm MR, Whitney ON, Al-Shayeb B, Lou YC, et al. Genome sequencing of sewage detects regionally prevalent SARS-CoV-2 variants. *MBio* [Internet]. 2021 Feb 23 [cited 2021 Apr 21];12(1):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio>
- University of Malawi college of medicine. COVID-19 RESEARCH DISSEMINATION CONFERENCE. Blantyre;
- Jahn K, Dreifuss D, Topolsky I, Kull A, Ganesanandamoorthy P, Fernandez-Cassi X, et al. Detection of SARS-CoV-2 variants in Switzerland by genomic analysis of wastewater samples. *medRxiv* [Internet]. 2021 Jan 9 [cited 2021 Apr 21];2021.01.08.21249379. Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.01.08.21249379>
- Status of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus: Scientific brief. 2020 [cited 2021 Apr 21]; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67854?locale=en&mode=full>.
- Influenza Virologic Surveillance Right Size Sample Size Calculators [Internet]. [cited 2021 Apr 21]. Available from: https://www.aphl.org/programs/infectious_disease/influenza/Influenza-Virologic-Surveillance-Right-Size-Roadmap/Pages/Influenza-Sample-Size-Calculators.aspx
- Variant Detection Calculator [Internet]. [cited 2021 Apr 21]. Available from: <https://covid-19.tacc.utexas.edu/dashboards/variants/>
- Makoni M. Africa's \$100-million Pathogen Genomics Initiative. *The Lancet Microbe* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2021 Apr 21];1(8):e318. Available from: www.thelancet.com/microbe
- Paul P, France AM, Aoki Y, Batra D, Biggerstaff M, Dugan V, et al. Genomic Surveillance for SARS-CoV-2 Variants Circulating in the United States, December 2020–May 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2021 Jun 11 [cited 2021 Jun 18];70(23):846–50. Available from: http://www.cdc.gov/mmwr/volumes/70/wr/mm7023a3.htm?s_cid=mm7023a3_w
- Galloway SE, Paul P, MacCannell DR, Johansson MA, Brooks JT, MacNeil A, et al. Emergence of SARS-CoV-2 B.1.1.7 Lineage — United States, December 29, 2020–January 12, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2021 Jan 22 [cited 2021 Apr 27];70(3):95–9. Available from: http://www.cdc.gov/mmwr/volumes/70/wr/mm7003e2.htm?s_cid=mm7003e2_w
- Gand M, Vanneste K, Thomas I, Van Gucht S, Capron A, Herman P, et al. Deepening of In Silico Evaluation of SARS-CoV-2 Detection RT-qPCR Assays in the Context of New Variants. *Genes (Basel)* [Internet]. 2021 Apr 13 [cited 2021 Apr 21];12(4):565. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/12/4/565>
- Sater FA, Younes M, Nassar H, Nguewa P, Hamze K. A Rapid and Low-Cost protocol for the detection of B.1.1.7 lineage of SARS-CoV-2 by using SYBR Green-Based RT-qPCR. [cited 2021 Apr 28]; Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.01.27.21250048>
- Khatamzas E, Rehn A, Muenchhoff M, Hellmuth J, Gaitzsch E, Weiglein T, et al. Emergence of multiple SARS-CoV-2 mutations in an immunocompromised host. *medRxiv* [Internet]. 2021 Jan 15 [cited 2021 Apr 21];2021.01.10.20248871. Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.01.10.20248871>
- Choi B, Choudhary MC, Regan J, Sparks JA, Padera RF, Qiu X, et al. Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Dec 3 [cited 2021 Apr 21];383(23):2291–3. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2031364>

21. Avanzato VA, Matson MJ, Seifert SN, Pryce R, Williamson BN, Anzick SL, et al. Case Study: Prolonged Infectious SARS-CoV-2 Shedding from an Asymptomatic Immunocompromised Individual with Cancer. *Cell*. 2020 Dec 23;183(7):1901-1912.e9.
22. COVID-19 diagnostic testing in the context of international travel Scientific brief [Internet]. 2020 [cited 2021 Apr 21]. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Sci_Brief-international_travel_testing-2020.1
23. Motozono C, Toyoda M, Zahradnik J, Ikeda T, Seng Tan T, Ngare I, et al. An emerging SARS-CoV-2 mutant evading cellular immunity and increasing 1 viral infectivity 2 3. *bioRxiv* [Internet]. 2021 Apr 5 [cited 2021 Jul 22];2021.04.02.438288. Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.04.02.438288>
24. Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, Liu S, et al. The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity. *Cell* [Internet]. 2020 Sep 3 [cited 2021 Jul 22];182(5):1284-1294.e9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.012>
25. Starr TN, Greaney AJ, Hilton SK, Ellis D, Crawford KHD, Dingens AS, et al. Deep Mutational Scanning of SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Reveals Constraints on Folding and ACE2 Binding. *Cell*. 2020 Sep 3;182(5):1295-1310.e20.
26. Schreiber G, Zahradník J, Marciano S, Shemesh M, Zoler E, Chiaravalli J, et al. SARS-CoV-2 RBD in vitro evolution parrots and predicts contagious mutation spread. 2021 Feb 5 [cited 2021 Jul 22]; Available from: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-183310/v1>
27. Greaney AJ, Starr TN, Gilchuk P, Zost SJ, Binshtein E, Loes AN, et al. Complete Mapping of Mutations to the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain that Escape Antibody Recognition. *Cell Host Microbe*. 2021 Jan 13;29(1):44-57.e9.
28. Weisblum Y, Schmidt F, Zhang F, DaSilva J, Poston D, Lorenzi JCC, et al. Escape from neutralizing antibodies 1 by SARS-CoV-2 spike protein variants. *Elife*. 2020 Oct 1;9:1.
29. Tian F, Tong B, Sun L, Shi S, Zheng B, Wang Z, et al. Mutation N501Y in RBD of Spike Protein Strengthens the Interaction between COVID-19 and its Receptor ACE2. *bioRxiv* [Internet]. 2021 Feb 18 [cited 2021 Jul 22];2021.02.14.431117. Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.02.14.431117>
30. Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, Gupta RK, Thomson EC, Harrison EM, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape [Internet]. Vol. 19, *Nature Reviews Microbiology*. Nature Research; 2021 [cited 2021 Jul 22]. p. 409–24. Available from: www.nature.com/nrmicro
31. Wang Z, Schmidt F, Weisblum Y, Muecksch F, Barnes CO, Finkin S, et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature*. 2021;
32. Michael Rajah M, Hubert M, Bishop E, Saunders N, Grzelak L, Planas D, et al. B.1.1.7 and B.1.351 SARS-CoV-2 variants display enhanced Spike-mediated fusion. *bioRxiv* [Internet]. 2021 Jun 11 [cited 2021 Jul 22];2021.06.11.448011. Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.06.11.448011>
33. Saito A, Irie T, Suzuki R, Maemura T, Uriu K, Kosugi Y, et al. SARS-CoV-2 spike P681R mutation, a hallmark of the Delta variant, enhances viral fusogenicity and pathogenicity. *bioRxiv* [Internet]. 2021 Jul 19 [cited 2021 Jul 22];2021.06.17.448820. Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.06.17.448820>
34. Kristiansen PA, Page M, Bernasconi V, Mattiuzzo G, Dull P, Makar K, et al. WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin [Internet]. Vol. 397, *The Lancet*. Elsevier B.V.; 2021 [cited 2021 Apr 21]. p. 1347–8. Available from: <https://www.nibsc.org/products/>
35. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science* (80-) [Internet]. 2021 Apr 9 [cited 2021 May 5];372(6538):eabg3055. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.abg3055>
36. Lewis NM, Chu VT, Ye D, Connors EE, Gharpure R, Laws RL, et al. Household Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 in the United States. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2020 Aug 16 [cited 2021 Apr 27]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7454394>
37. 20210225_weekly_epi_update voc-special-edition [Internet]. [cited 2021 Apr 21]. Available from https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20210225_weekly_epi_update_voc-special-edition.pdf?sfvrsn=1eacfa47_7

Poděkování

Tento dokument byl vypracován po konzultaci s:

Ze Světové zdravotnické organizace: Maya Allan, Brett Archer, Armanath Bapu, Lisa Carter, Jane Cunningham, Roger Evans, Daniel Feikin, Julia Fitzner, Masaya Kato, Biaukula Viema Lewagalu, Marco Marklewitz, Piers Mook, Minal Patel, Boris Pavlin, Richard Pebody, Emilie Peron, Mark Perkins, Olivier le Polain, Tika Ram, Lorenzo Subissi, Katelijjn Vandemaele, Pushpa Ranjan Wijesinghe, Hattori Yuta, Judith Mandelbaum-Schmid

Z Pan American Health Organization (PAHO) / Regionální pobočky WHO pro Ameriku (AMRO): Paula Couto, Lidia Redondo, Angel Rodriguez, Gaetano Marrone, Juliana Leite, Jairo Andrea Mendez Rico

The WHO Epidemiology Technical Advisory Group

The WHO Virus Evolution Technical Advisory Group

Management of conflicts of interest:

Všichni externí přispěvatelé uvedení níže vydali prohlášení o střetu zájmů v souladu se zásadami WHO. Nebyl zaznamenán žádný střet zájmů.

Z CDC USA v rámci společné technické pracovní skupiny: Isaac Ghinai, Adam Mac Neil, Adam L. Cohen, Chris Murrill, Keegan Rudmann

Africa CDC: Stephanie Saylor

European CDC: Theresa Enkrich, Angeliki Melidou, Cornelia Adloch, Gaetano Marrone, Joana Gomes Dias, Benjamin Bluemel

Bill and Melinda Gates Foundation: Jordan Tappero, Georgina Murphy

Financování: WHO Internal Funds

WHO i nadále důkladně sleduje situaci a jakékoli změny, které by mohly mít vliv na tyto prozatímní pokyny. Jestli dojde ke změně jakýchkoli faktorů, WHO vydá další aktualizaci. V opačném případě skončí platnost tohoto dokumentu s prozatímními pokyny po uplynutí dvou let od data jeho vydání.

© Světová zdravotnická organizace 2021. Některá práva vyhrazena. Tento dokument je k dispozici v rámci licence [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

Referenční číslo WHO: [WHO/2019-nCoV/surveillance/variants/2021.1](https://www.who.int/publications/m/item/WHO/2019-nCoV/surveillance/variants/2021.1)