

Sekvenování genomu viru SARS-CoV-2 pro účely veřejného zdraví

Prozatímní pokyny
ze dne 8. ledna 2021



Klíčová sdělení:

- Globální surveillance genetických sekvencí viru SARS-CoV-2 a souvisejících metadat je součástí reakce na šíření nákazy onemocnění COVID-19. Spočívá ve sledování šíření viru SARS-CoV-2 z geografického pohledu v průběhu času a v zajištění včasného odhalení a vyhodnocení mutací, které by potenciálně mohly ovlivnit patogenitu, přenos nebo protiopatření (jako jsou vakcíny, terapeutické nebo diagnostické přípravky).
- Ačkoli náklady a složitost genetického sekvenování v průběhu času klesly, programy pro efektivní sekvenování stále vyžadují značné investice z hlediska personálu, vybavení, činidel a bioinformatické infrastruktury. Navíc pro zajištění dobré kvality a smysluplného využití generovaných dat je zapotřebí efektivní spolupráce.
- Země jsou vyzývány k rychlému ukládání sekvencí SARS-CoV-2 do veřejné databáze s cílem jejich sdílení s vědeckou komunitou pro účely veřejného zdraví. Investice do víceúrovňové globální sítě pro sekvenování SARS-CoV-2 přispěje k vývoji flexibilních, vysoce kvalitních globálních programů pro sekvenování, které pomohou při odhalování a vypořádávání se s dalšími patogeny, které se v budoucnosti mohou šířit.

Východiska

V průběhu poslední dekády začala data o genetických sekvencích (genetic sequence data, GSD) patogenů hrát stěžejní roli v procesu detekce a managementu epidemií infekčních onemocnění. Přispívají k vývoji diagnostik, léčiv a vakcín a jsou základem reakce na propuknutí nákazy (1-11). S objevením se nového koronaviru, později pojmenovaného jako koronavirus 2 způsobující závažný akutní respirační syndrom (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) se důležitost GSD ještě více zdůraznila. Více než 280 000 úplných sekvencí genomu bylo sdíleno prostřednictvím veřejně dostupných databází během jednoho roku od prvotní identifikace viru SARS-CoV-2 (12). Analýza dat téměř v reálném čase přímo ovlivnila reakci v oblasti veřejného zdraví (12-16). Cíle v oblasti veřejného zdraví spojené se sekvenováním genomu SARS-CoV-2 jsou uvedeny v Tabulce 1.

Zvyšující se porozumění tomu, jak informace o sekvencích může přispět ke zlepšení veřejného zdraví je hnací silou pro globální investice do zařízení a programů pro sekvenování. Klesající náklady a složitost generování GSD poskytuje příležitosti pro rozšiřování kapacity sekvenování; nicméně přetrvávají překážky v rozsáhlém rozšíření a sekvenovací kapacita a data nejsou ve světě rozděleny rovnoměrně, přičemž převládají GSD o viru SARS-CoV-2 ze zemí s vysokými příjmy.

Tabulka 1. Cíle v oblasti veřejného zdraví spojené se sekvenováním genomu SARS-CoV-2

Aktivity, které vyžadují malé úsilí a které, jakmile jsou splněny, nemusí vyžadovat žádné sekvenování nebo příležitostné sekvenování v rámci následného sledování	Aktivity, které vyžadují trvalé sekvenovací činnosti během delšího časového období	
<ul style="list-style-type: none">- Identifikace SARS-CoV-2 jako původce onemocnění.- Vývoj diagnostiky SARS-CoV-2.- Podpora vývoje léčebných postupů a očkovacích látek.- Vyšetření data přenesení na lidi a vyšetření původu SARS-CoV-2 (probíhá).- Reinfekce:<ul style="list-style-type: none">• Vyhodnocení a zlepšení porozumění tomuto fenoménu.• Rozlišení mezi prolongovanou infekcí a reinfekcí na individuální úrovni.	Evoluce viru SARS-CoV-2 a její dopad na: <ul style="list-style-type: none">- Změnu chování viru (změnu fenotypu), např. z hlediska přenositelnosti nebo patogenity;- Imunitu (vycházející z vakcín nebo přirozené infekce);- Diagnostiku (tj. molekulární, serologické, antigenní testy);- Léčebné intervence (např. monoklonální protilátky).	Monitorování pohybu a aktivity viru: <ul style="list-style-type: none">- Vyšetřování geografického šíření a reintrodukce mezi populacemi.- Vyšetřování šíření nákazy ve specifických prostředích a populacích (např. v nemocnicích).- Sledování zoonotické reintrodukce v obou směrech přes druhovou bariéru.- Monitorování životního prostředí a odpadních vod.- Podpora klasické surveillance prostřednictvím kvantifikace doby přenosu a vyhodnocení hnacích mechanismů a odhadu úrovně přenosu v populaci.

Účel tohoto dokumentu

Tento dokument poskytuje tvůrcům strategií a zúčastněným stranám na národní úrovni pokyny, jak v oblasti veřejného zdraví maximalizovat přínos sekvenování genomu SARS-CoV-2 v krátkodobém i dlouhodobém horizontu s tím, jak pokračuje vývoj pandemie. Jsou zde zahrnuty praktické úvahy spojené s implementací programu sekvenování virového genomu a také přehled cílů v oblasti veřejného zdraví souvisejících se sekvenováním genomu. Tyto pokyny se zaměřují na SARS-CoV-2, ale jsou použitelné pro další patogeny ohrožující veřejné zdraví. Je doporučeno, aby země, které mají zájem vybudovat kapacity pro sekvenování SARS-CoV-2, tak učinily v rámci širšího plánu na vybudování kapacity pro detekci a monitorování dalších patogenů ohrožujících veřejné zdraví.

Další pokyny SZO

SZO ve spolupráci s odborníky na sekvenování z celého světa vytvořila implementační příručku [Sekvenování genomu SARS-CoV-2: průvodce implementací pro maximální dopad na veřejné zdraví](#). Tato příručka přináší komplexnější východiska pro sekvenování SARS-CoV-2 a je určena těm, kdo jsou aktivně zapojeni do implementace sekvenovacích programů (17). Poskytuje podrobný souhrn různých způsobů použití sekvenování a přináší technické rady týkající se sekvenování patogenu v kontextu SARS-CoV-2. Laboratoře s omezenými zkušenostmi se sekvenováním by kromě přečtení tohoto a dalších vydaných dokumentů měly aktivně vyhledávat příležitosti ke spolupráci se zkušenými laboratořemi a/nebo se připojit k laboratorním sítím s odborností v oblasti sekvenování, případně takovou síť vytvořit.

1. Úvod do SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 je zařazen do rodu *Betacoronavirus* (podrod *Sarbecovirus*) z čeledi *Coronaviridae* (18). Je to obalený, jednovláknový RNA virus (obsahující ribonukleovou kyselinu) s pozitivní polaritou a přibližně 30kb genomem (19). Genetické sekvenování umožňuje čtení virových genomů. Jelikož každý patogen má jedinečnou sekvenci genomu, tato metoda může být použita pro identifikaci nových patogenů (jako v případě SARS-CoV-2) (20). Genom viru SARS-CoV-2 kóduje nestrukturní proteiny, čtyři strukturní proteiny (spike [S], obalový [E], membránový [M], nukleokapsidový [N] a několik domnělých doplňkových proteinů (21-23). Pro vstup viru SARS-CoV-2 do hostitelské buňky je nutné navázání virového S proteinu na receptor v podobě angiotenzin konvertujícího enzymu 2 (ACE2) hostitelské buňky (24-27). Spike protein viru SARS-CoV-2, zejména vazebná doména pro receptor (receptor-binding domain, RBD) je klíčovým cílem pro přirozenou a očkováním indukovanou imunitu (28-32). A proto diverzifikace genu kódujícího spike protein by potenciálně mohla mít vliv na účinnost vakcíny, přirozenou imunitu a léčbu (monoklonálními) protilátkami (33).

Při replikaci virů, zejména RNA virů jako SARS-CoV-2, se v genomu objevují změny (mutace). Pokud získaná mutace nepředstavuje evoluční nevýhodu, může se stát trvalou součástí populací viru SARS-Cov-2. Rychlost evoluční změny u SARS-CoV-2 na úrovni nukleotidu je v současné době odhadována na 1×10^{-3} substitucí v jednom místě za rok (34). To znamená přibližně jednu substituci v genomu každé dva týdny (35). Tato relativně nízká rychlost evoluce omezuje časové rozlišení jednotlivých případů přenosu (35). Studium evoluce SARS-Cov-2 a rychlá identifikace substitucí, inzercí nebo delecí, které by mohly ovlivnit vlastnosti viru (změnu fenotypu) jsou důležitými nástroji epidemického monitorování. Jedním z nejviditelnějších přínosů takové práce je detekce mutací, které jsou spojeny se změnami v přenositelnosti a/nebo patogenitě viru, nebo které mohou snížit účinnost lékařských protiopatření (diagnostiky, vakcín nebo léčiv). Sledování mutací viru v průběhu času a prostoru také může pomoci stopovat šíření patogenu a zvýšit porozumění potenciálním cestám a dynamikám přenosu. Historie vývoje patogenů může být zrekonstruována prostřednictvím fylogenetické analýzy. Fylogenetické a fylodynamické (tj. jak jsou fylogeneze viru formovány epidemiologickými a evolučními procesy) analýzy mohou přinést rozsáhlé informace užitečné pro reakci na šíření nákazy.

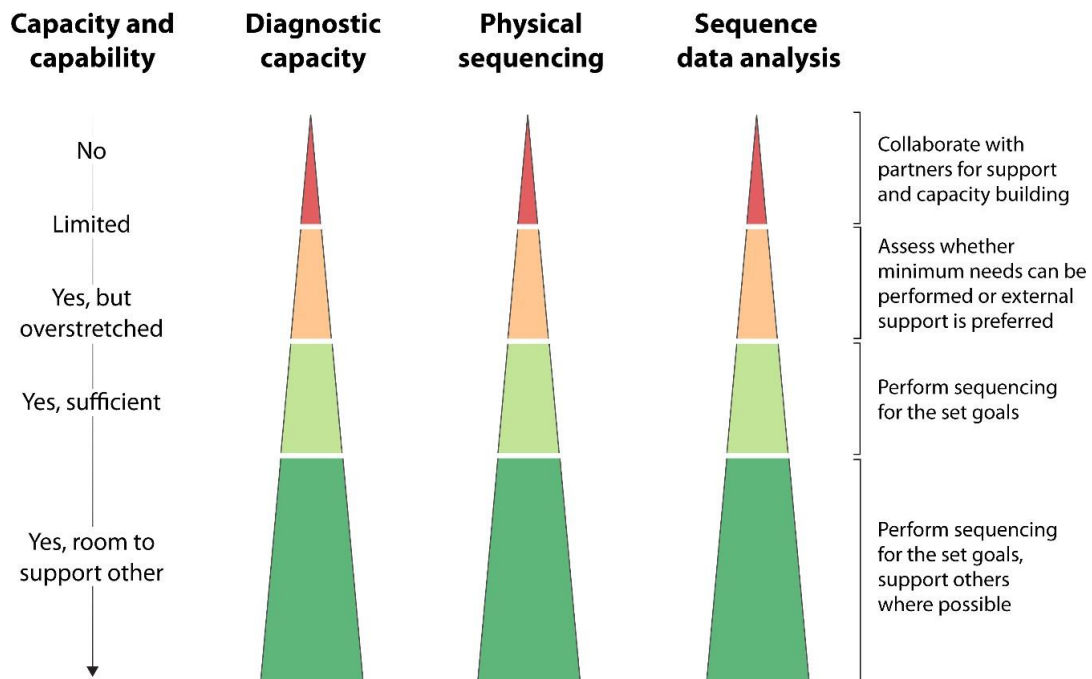
2. Vytvoření optimálního přístupu k sekvenování SARS-CoV-2 v místním kontextu

2.1 Kontextově specifické stanovení priorit pro cíle a přístup k sekvenování

Ačkoli náklady na genové sekvenování v posledních dekáдах významně klesly, sekvenování stále vyžaduje značné investice do zdrojů (finančních, infrastrukturních a lidských). Prvním klíčovým krokem před zahájením projektu sekvenování je rozhodnutí, zda se sekvenování pro dosažení konkrétního cíle opravdu vyplatí, nebo zda jsou dostupné jiné, z hlediska času a nákladů efektivnější přístupy. Toto rozhodování může zahrnovat zvažování, zda virové sekvenování je samo o sobě dostačující pro dosažení definovaného cíle, nebo zda by mělo být součástí multidisciplinárního přístupu. Epidemiologicky zaměřené aktivity, které začleňují analytiku genomických dat přímo do vyšetřovacích a reakčních týmů v oblasti veřejného zdraví, mají pravděpodobně větší okamžitý dopad než ty, u kterých analýzy virového genomu existují jako oddělené nebo sekundární aktivity.

Tam, kde jsou zdroje na podporu sekvenování omezené, může být nutné omezit cíle programu pro sekvenování na takové aktivity, které mají vysoký potenciál v oblasti klinické a/nebo veřejného zdraví a které mohou být trvale udržovány. Takový program může upřednostňovat sekvenování SARS-CoV-2 i) u jedinců očkovaných proti SARS-CoV-2, kteří ale byli později virem SARS-CoV-2 nakaženi přes známky přiměřené imunitní odpovědi na vakcínu; ii) v rizikových prostředích, kde dochází k blízké interakci mezi lidmi a zvířaty a jde o velký počet zvířat, která jsou náchylná k infekci SARS-CoV-2, nebo v prostředích s imunokompromitovanými pacienty s prodlouženou dobou vylučování viru, zejména když dostávají protilátkovou léčbu proti SARS-CoV-2; iii) v případě nečekaného nárůstu nebo změny přenositelnosti a/nebo virulence SARS-CoV-2; iv) v případě podezření na změnu ve výkonu diagnostických metod (protilátkových, antigenních, molekulárních testů) nebo léčby; a v) během klastrového šetření, kdy sekvenování může pomoci porozumět případům přenosu a/nebo vyhodnotit účinnost postupů pro kontrolu infekce.

Obr. 1 zobrazuje přehled základních pilířů nutných pro sekvenování. Pokud není dostupná žádná nebo je k dispozici jen omezená kapacita ve všech třech pilířích, bude pravděpodobně nutné vybudovat partnerství s dalšími skupinami, aby bylo možné dosáhnout cílů sekvenování. Naopak, pokud je k dispozici dostatek kapacity a zdrojů pro jeden nebo více pilířů, laboratoř může uvažovat o podpoře dalších partnerů se vznikajícími programy pro sekvenování. V průběhu různých fází šíření nákazy bude vznikat proměnlivá poptávka po kapacitě a může být nutné, aby se laboratoře posunuly od jedné strategie ke druhé.



Obr.1. Stanovení kapacity v pilířích nutné pro sekvenování za účelem výběru nejlepšího přístupu pro nastavení programu pro sekvenování

2.2 Investice do globální trvale udržitelné kapacity sekvenování pro SARS-CoV-2 a další (nově se objevující/znovu se objevující) patogeny v oblasti veřejného zdraví

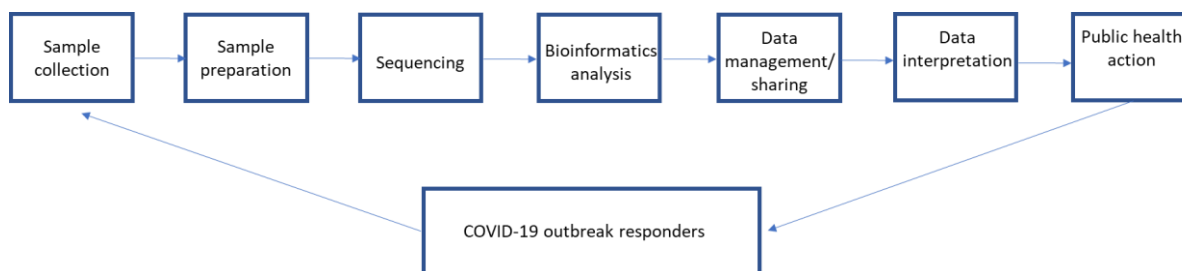
Víceúrovňové laboratorní sítě SZO prokázaly funkčnost a umožnily celosvětovou spolupráci s regionální adaptací sítí na specifické národní a regionální potřeby (36-39). Vybudování tak silné a flexibilní celosvětové sítě pro sekvenování může maximalizovat dopad sekvenování viru SARS-CoV-2 a dalších nově se objevujících/znovu se objevujících patogenů na veřejné zdraví. Referenční laboratoře SZO poskytující konfirmační testování na COVID-19 v současné době podporují některé z těchto potřeb sekvenování a analýzy (40). Některé regiony mají, nebo vyvíjejí, kapacity pro sekvenování, které budou schopny připojit se k celosvětové síti laboratoří/sekvenovacích skupin. Pro určení přínosu, který mohou laboratoře v síti mít, může být proveden globální odhad kapacity pro každý pilíř uvedený na Obr.1. Různé laboratorní sítě specifické pro jednotlivé patogeny (jako ty zabývající se antimikrobiální rezistencí, MERS-CoV, chřipkou, spalničkami, zarděnkami, poliiovirem a tuberkulózou) investovaly do sekvenovací kapacity jako do součásti svých surveillance aktivit (8,9,41-43). Jelikož náklady na sekvenování jsou stále značné a řada částí sekvenačního pracovního procesu může být použita pro různé patogeny nebo cíle sekvenování, pro zajištění optimálního používání existujících kapacit je doporučována národní spolupráce. Programy na budování kapacit by se měly zaměřit na postupný přístup k budování kompetencí. Priority budování kapacit by měly být závislé na kontextu. Pro některé země by dávalo smysl budování kapacit mokřých laboratoří, zatímco v jiných prostředích by mělo větší účinek externí zajištění samotného sekvenování a zaměření se na bioinformatiku, management a interpretaci dat. Efektivní spolupráce, sdílení dat, standardizované protokoly pro sekvenování, sdílená setkání a školení, audity, testování způsobilosti (sekvenování a analýza) a vývoj referenčních standardů pro hodnocení různých postupů budou pomáhat v dalším vývoji vysoce kvalitních programů pro sekvenování SARS-CoV-2 a pro detekci patogenů, které se mohou objevit v budoucnosti, a reakci na ně. Tam, kde dochází ke sdílení vzorků v rámci sítě, by měl být zaveden vhodný mechanismus pro zasílání vzorků podle odpovídajících požadavků.

3. Praktické aspekty implementace programu sekvenování virového genomu

Zde nabízíme obecný přehled technických požadavků k zavedení programu pro sekvenování. Podrobné informace týkající se sekvenování SARS-CoV-2 naleznete v úplné příručce pro implementaci sekvenování SARS-CoV-2 (17).

3.1 Praktické úvahy při vývoji programu pro sekvenování SARS-CoV-2

Cíle sekvenování určí podobu pracovního procesu sekvenování (Tabulka 1). Relevantní klíčové otázky na podporu tohoto procesu naleznete v Příloze I. Příloha II. obsahuje seznam aspektů plánování programu pro sekvenování SARS-CoV-2. Obr. 2 popisuje pracovní proces celého sekvenování genomu SARS-CoV-2. Veškerý personál zapojený do programu sekvenování by měl absolvovat příslušné školení a seznámit se s instrukcemi, aby mohl plnit určený úkol. V rané fázi mají být určeny, konzultovány a zapojeny klíčové zúčastněné strany. Mezi zúčastněné strany, které se mají zapojit do vývoje programů pro sekvenování patří orgány veřejného zdraví, diagnostické laboratoře, zařízení pro sekvenování, analytické skupiny a, v závislosti na prostředí, týmy pro prevenci a kontrolu infekcí nebo pracovně lékařské služby, skupiny na podporu pacientů a, kde je to vhodné, další instituce zapojené do výzkumu rozhraní člověk-zvíře. Komunikační kanály a cesty, které jsou v souladu s cíli programu, by měly být vyvíjeny a udržovány po celou dobu projektu, aby bylo zajištěno, že sekvenační data jsou využívána maximálně efektivně. Pravidelná hodnocení pokroků projektu společně se závěrečným vyhodnocením jsou klíčová z hlediska zajištění, že dochází k poučení a zlepšením tam, kde je to zapotřebí. Úspěšné dosažení cílů programu pro sekvenování se zaměřením na nově se objevující patogeny vyžaduje zapojení odborníků z různých oborů: (i) sekvenování v mokré laboratoři a bezpečné zacházení se vzorky s virem; (ii) generování přesných genomů ze surových dat; (iii) analýza genomů za účelem generování smysluplných výsledků, které jsou užitečné pro reakci na šíření nákazy; a (iv) patogeny. Většina odborníků bude kvalifikována pouze v jedné nebo dvou z těchto oblastí. V případě (ii) a (iii) jsou pro dosažení rychlých výsledků vyžadovány výkonné počítačové systémy. Spolupráce mezi odborníky s různými dovednostmi a sdružování zdrojů je proto často klíčem ke generování včasných, přesných a efektivních výsledků, které mohou skutečně ovlivnit veřejné zdraví.



Obr.2. Pracovní proces sekvenování celého genomu SARS-CoV-2. Všimněte si, že úspěšná implementace tohoto pracovního procesu bude zahrnovat oboustrannou komunikaci mezi zapojenými odborníky na různých úrovních; například ti, kteří budou provádět interpretaci údajů, by ideálně měli diskutovat výběr vzorků ze sekvenování s těmi, kteří se věnují výběru a přípravě vzorků.

3.2 Etické aspekty

Při navrhování programu pro sekvenování je důležité posoudit etické důsledky. Měla by být rozpoznána možná rizika sociální újmy pro účastníky výzkumu a měly by být definovány strategie na jejich zmírnění. Jakákoliv navržená šetření mají být posouzena a schválena výborem pro etickou kontrolu, který vezme v úvahu společenskou hodnotu, vědeckou oprávněnost, výběr účastníků, poměr rizik a přínosů, informovaný souhlas a trvalý respekt k účastníkům (44-46). Tam, kde výzkumníci nemají zkušenosti s rozpoznáváním možných etických problémů spojených se sekvenováním nakažlivých patogenů jako SARS-CoV-2, je silně doporučováno navázat mezinárodní spolupráci a zapojit příslušné odborníky (44). Spolupráce mezi výzkumníky po celém světě by měla zajistit spravedlivé a vzájemně přínosné partnerství v rámci výzkumu. Lokální výzkumníci mají být podporováni v tom, aby se ujali vedoucích a aktivních rolí v rámci výzkumného procesu, protože se pravděpodobněji budou lépe orientovat v místní zdravotní péči a výzkumných systémech a budou schopni převést výsledky do strategie (44, 45). Etické aspekty sdílení sekvence genomu a metadat jsou diskutovány v části 3.7.

3.3 Aspekty strategie vzorkování a přípravy vzorků

Jakmile jsou určeny cíle, je třeba s příslušnými zúčastněnými stranami připravit vhodnou strategii vzorkování. Podrobnosti o vzorkování naleznete v implementační příručce pro sekvenování SARS-CoV-2 (17). Ideálně by důvody výběru vzorků pro sekvenování měly být zaznamenány v metadatech, protože zařazení nenáhodných podskupin vzorků může ovlivnit spolehlivost některých genetických analýz, jako jsou fylogenetické a fylodynamické analýzy. Praktické rady, jak sbírat klinické vzorky, jsou popsány v pokynech pro diagnostiku SARS-CoV-2 (47). Před sekvenováním je doporučeno obohatit vzorek o genetický materiál SARS-Cov-2 oproti jinému genetickému materiálu. Během tohoto kroku dbejte na to, aby vzorek nebyl kontaminován (17, 48, 49). Přístupy založené na PCR představují levnou, rychlou a pohodlnou cestu ke zvýšení množství genetického materiálu viru dostupného ve vzorku před sekvenováním, příkladem je přístup navržený projektem ARTIC Network (51-53). Více informací o technických detailech a výběru optimální metody pro různá prostředí naleznete v implementační příručce pro sekvenování SARS-CoV-2 (17). Po výchozí přípravě vzorků sloužící k obohacení genetického materiálu SARS-CoV-2 mohou být knihovny obvykle připraveny za použití protokolů pro sekvenování, které jsou vhodné pro jakýkoliv virus.

3.4 Laboratorní aspekty

Strategie sekvenování SARS-CoV-2 zahrnují cílené přístupy, které spoléhají na znalost genomu, a metagenomické přístupy, které nevyžadují předchozí znalost genomické sekvence (54, 55). Příloha III shrnuje klíčové výhody a omezení každé z běžně používaných sekvenačních technologií. Před investováním do kapacity pro sekvenování by měly být zváženy požadavky na různé technologie z hlediska lidských zdrojů, odborných schopností personálu, laboratorní infrastruktury, doby běhu, nákladů, snadnosti použití, zpracování následných údajů, propustnosti (míry produkce dat) a přesnosti sekvenování. Počet vzorků, které mají být analyzovány, bude záviset na záměru sekvenování. Při počítání nákladů berte v úvahu nejen pořízení vybavení na sekvenování, ale také opakující se náklady na činidla, údržbu a servisní smlouvy. Tyto pokyny se náklady nezabývají, ale můžete zde nalézt rozsáhlý aktuální přehled (8). Spolehlivost sekvenování by měla být podpořena zavedením základní infrastruktury, zahrnující spolehlivé internetové připojení a dodávku elektřiny, vhodné prostředí (např. některé platformy vyžadují prostředí bez vibrací a prachu, zaznamenávání a regulaci teploty a vlhkosti) a evidované uchovávání

vzorků. Mají být zavedena vhodná opatření v oblasti biobezpečnosti a bioochrany. Posouzení nákladů a požadavků na základní infrastrukturu může pomoci rozhodnout, zda by vlastní sekvenování mělo být provedeno interně nebo by raději mělo být outsourcováno. Technologie se rychle mění; proto se některé techniky stanou obsolentními nebo výrobci přejdou na jiné stroje a/nebo činidla. Před realizací velkých investic je doporučeno stanovit, na jak dlouho se výrobce zaváže k dodávání činidel a podpoře údržby a řešení problémů vybraných platform. Při plánování programu by také měla být vzata v úvahu dostupnost pomocných činidel a doplňkového pracovního vybavení pro sekvenování (týká se to např. extrakčních metod [automatických nebo manuálních], nástrojů pro kvantifikaci genetického materiálu, nástrojů pro amplifikaci a inkubaci, čištění vzorků a uchovávání vzorků a činidel). Laboratoře, které provádějí sekvenování genomu, mají mít vysoce kvalitní PCR kapacitu pro SARS-CoV-2 potvrzenou interním nebo externím zajištěním kvality. Navíc pro každý krok v rámci procesu by měly být stanoveny a monitorovány ukazatele kvality.

3.5 Aspekty bioinformatiky a výpočetní techniky

Hardwarové požadavky se liší v závislosti na přijatém přístupu (podrobnosti naleznete v implementační příručce (17)). Objem vytvořených surových dat závisí na metodě sekvenování (viz Příloha III) a počtu sekvenovaných vzorků (56). Výpočetní výkon požadovaný pro analýzu dat se také liší podle cíle a metody sekvenování. Například fylogenetika a zarovnání genomu může vyžadovat vysoce výkonný výpočetní systém, zejména pokud jsou soubory dat rozsáhlé. Náklady na architekturu výpočetního systému nutného pro uchovávání a manipulaci s těmito daty je třeba vzít v úvahu při vývoji sekvenovací pipeline (série integrovaných postupů). Bioinformatická pipeline bude záviset na presekvenovacích laboratorních fázích, platformě pro sekvenování a používaných činidlech. Podrobný popis bioinformatické pipeline naleznete v implementačních pokynech (17).

3.6 Aspekty pojmenování a nomenklatury virů

Pro SARS-CoV-2 zatím nebyla zavedena konzistentní nomenklatura. V případě chybějící dohodnuté konzistentní nomenklatury jsou obecně používány tři nomenklaturní strategie. Linie nebo klady mohou být definovány na základě virů, které sdílejí fylogeneticky determinovaného společného předka. Jak GISAID, tak Nextstrain mají za cíl poskytovat širokou kategorizaci celosvětové diverzity pomocí pojmenování různých fylogenetických kladů. Rambaut a spol. navrhli dynamickou nomenklaturu pro linie SARS-Cov-2, která se zaměřuje na aktivně se šířící virové linie a ty, které se šíří na nová místa (57). Pro automatické přiřazení nových sekvencí k linii a/nebo kladu je k dispozici software. (58-60). Se zvyšující se rozmanitostí v genomech SARS-CoV-2 roste poptávka po jednotné nomenklatuře (57, 61, 62). Zatímco konzistentní nomenklatura neexistuje, nejlepším přístupem by mohlo být sestavení seznamu konkrétních linií a/nebo kladů za použití všech tří běžně používaných systémů, nebo alespoň za výslovného uvedení používané nomenklatury.

3.7 Sdílení genomických sekvencí a metadat

Rychlé sdílení GSD patogenů spolu s relevantními anonymizovanými epidemiologickými a klinickými metadaty maximalizuje vliv sekvenování genomu na reakci v oblasti veřejného zdraví (63-65). Široké sdílení sekvencí SARS-CoV-2, stejně jako diagnostických protokolů, protokolů pro sekvenování a vzorků, znamenalo globální přínos pro dosažení celosvětové kapacity molekulární diagnostiky (66-68). Vědecká/lékařská komunita by měla pokračovat v budování celosvětové spolupráce a včasné sdílení dat během šíření SARS-CoV-2 a nálezů, které se mohou objevit v budoucnu. Pro sdílení dat o genomických sekvencích SARS-CoV-2 se nabízí dvě odlišné možnosti: „veřejná doména“ a „veřejný přístup“ (69). Databáze s veřejnou doménou umožňují přístup k datům, aniž by požadovaly identitu toho, kdo k ní přistupuje a používá data, například INSDC provozována DDBJ, EMBL-EBI a NCBI. V databázích s veřejným přístupem, jako je GISAID, se uživatelé musí identifikovat, aby bylo zajištěno transparentní používání dat, umožněn efektivní dohled, chráněna práva přispěvatelů dat, vyvinuto nejlepší úsilí ke spolupráci s poskytovateli dat a poděkováno za jejich příspěvek k publikovaným výsledkům. Zmíněné příklady jsou bez poplatků a dostupné veřejnosti. Při vývoji projektů na sekvenování patogenů je zcela nezbytné určit, která, pokud některá, z těchto možností výběru je nejvhodnější a zda jsou nutné další metody pro přístup a sdílení GSD (44). Jedním z důležitých faktorů pro zajištění kontinuálního sdílení genetických dat je vyjádření náležitého uznání těm, kteří sbírají klinické vzorky a generují genomické sekvence viru. Zdroje dat by měly být přiznány vždy, když jsou používána veřejně dostupná data, a kde je to možné, měly by být citovány související publikace a předtištěné články.

Data sekvence, zahrnující konsenzuální sekvence, částečně konsenzuální sekvence a surová data sekvence, mohou být přínosně sdílena ve více formátech. Před sdílením by měla být pečlivě posouzena kvalita dat sekvence, včetně potenciální kontaminace amplikony produkovanými během PCR. V případě, že je objevena a opravena chyba, měly by laboratoře kontaktovat platformy sdílející sekvence pro aktualizaci dříve odevzdaných částečných

sekvencí. Sdílení surových virových sekvenačních readů (tj. všech jednotlivých sekvenovaných fragmentů virového genomu před sestavením do jednoho konsenzuálního genomu) je důležité, protože umožňuje přímé srovnání efektu různých bioinformatických přístupů ke generování konsenzuálního genomu a usnadňuje případné opravy chyb. Kvůli rozsáhlé velikosti dat sekvenovaných knihoven může být sdílení dat na úrovni readů o něco náročnější v prostředích s omezenou rychlostí uploadu nebo přerušovaným spojením. Jakákoliv sdílená data by měla chránit anonymitu pacienta. Pro zajištění anonymity pacienta musí být surová data obsahující lidské ready před sdílením filtrována pro zachování pouze jiných než lidských (tj. virových) GSD (43). Aby sekvenační data mohla být použita v řadě fylogenetických aplikací, je nutné sdílení propojených metadat, jako je datum odběru vzorku nebo přibližné místo vzorkování. Nicméně by mělo být pečlivě zváženo, která metadata mohou být opodstatněně sdílena, aniž by došlo k ohrožení anonymity pacienta.

Předběžné analýzy GSD jsou často sdíleny prostřednictvím fór, platform a předtiskových serverů (70-72). Prostřednictvím svých publikací, stejně jako u všech vědeckých zpráv, by vědci měli zvážit silné a slabé stránky svých analýz a způsoby, jak analýzy mohou být interpretovány nebo prezentovány různými publiky před recenzováním.

Je doporučeno, aby vědci poskytli jasnou interpretaci svých poznatků, aby bylo minimalizováno riziko nepochopení nebo nesprávného zacházení s výsledky.

4. Cíle v oblasti veřejného zdraví spojené se sekvenováním genomu SARS-CoV-2

Níže jsou shrnuty příklady klíčových cílů v oblasti veřejného zdraví spojených se sekvenováním SARS-CoV-2; podrobné popisy naleznete v implementační příručce pro sekvenování SARS-CoV-2 (17).

4.1 Identifikace a charakterizace SARS-CoV-2 a vývoj protiopatření

Sdílení kompletní genetické sekvence nového viru počátkem ledna 2020 bylo zásadní pro charakterizaci SARS-CoV-2 a umožnilo rychlý vývoj diagnostiky a podpořilo vývoj léčebných postupů a vakcín (73-80). Genomické sekvenování rozšiřuje naše povědomí o původu a přenosu nových virů. Studium genomů původního viru SARS-CoV-2 dostupného z Wu-chanu, Čínské lidové republiky a okolních oblastí, bylo možno určit nejpozdější možné datum objevení se u lidí na listopad – prosinec 2019 (74, 75, 81, 82). Sběr vzorků od široké škály zvířat pomáhá výzkumu v oblasti identifikace iniciálního zvířecího zdroje a/nebo potenciálních mezipřenositelů (81, 83, 84).

4.2 Monitorování přenosu a geografického šíření

Fylogenetika je metoda pro zkoumání evolučních vztahů mezi různými organismy za použití jejich genetických sekvencí. Používá se téměř v každém oboru biologie a má řadu důležitých uplatnění při utváření reakcí v oblasti veřejného zdraví (17, 85-87). Dostupnost epidemiologických nebo klinických dat souvisejících s odběrem vzorků virové genomické sekvence (často označované jako metadata, např. datum odběru vzorku, lokace pacienta, klinické parametry) rozšiřuje interpretaci fylogenetických analýz. Která metadata jsou požadována se různí podle záměru genomického sekvenování. Technické aspekty týkající se fylogenetických a fylogenetických analýz, metadat a běžných rizik nesprávné interpretace naleznete v implementační příručce pro sekvenování SARS-CoV-2 (17).

4.2.1 Zkoumání geografického šíření a reintrodukce mezi populacemi

Pro sledování celosvětové cirkulace viru SARS-CoV-2 se používají fylogeografické analýzy, které využívají genomické sekvence a informace o místě vzorkování (13, 47, 88-90). Fylogeografické rekonstrukce jsou často výpočetně náročné a strategie založené na podvzorkování mohou pomoci snížit tuto výpočetní zátěž. Odvození pohybu viru nebo země původu specifických kladů/linií může být cenné, ale mělo by být prováděno s opatrností, protože některé faktory mohou fylogenetickou rekonstrukci zkreslovat. Například nedostatek dostupných genomů SARS-CoV-2 z některých oblastí může snížit pravděpodobnost, že tyto oblasti budou rekonstruovány jako zeměpisný původ linie/kladu. Genomické sekvence mohou být v některých databázích spojeny s lokací odběru vzorku namísto s lokací, u které je podezření, že je místem nakažení pacienta. Tam, kde se tyto lokace liší, protože pacient se v době mezi časy nakažení a vzorkování viru přemístil, může fylogenetická analýza vést k nepřesné rekonstrukci původu specifických kladů/linií (91). Tyto výsledky by měly být interpretovány opatrně, a ne s předpokladem, že fylogenetické výsledky představují skutečné vzory spaciotemporálního (v čase a prostoru) šíření viru.

Metody odvození spaciotemporálního šíření nákazy také mohou být využity pro zkoumání faktorů, které byly hnací silou pro šíření viru (92). Určení hnacích mechanismů přenosu může pomoci formovat nové strategie pro prevenci

šíření. Tento přístup byl použit například při propuknutí nákazy virem Ebola v západní Africe (93, 94). V případě SARS-CoV-2 některé země použily genomické sekvenování pro stanovení podílu místního přenosu v porovnání s importovanými případy a využily tuto informaci při přijímání politických rozhodnutí (89, 90, 95-100). Fylogenetická identifikace faktorů, které jsou důležité pro porozumění přenosu, je často výpočetně náročná a vyžaduje úpravu rozsáhlých dat týkajících se potenciálně vysvětlujících faktorů (např. hustota lidské populace, lidská mobilita). Analýzy jsou proto často dokončeny týdny až měsíce po genomickém sekvenování viru. Nicméně i retrospektivní analýzy jsou užitečné pro doporučení intervencí u viru SARS-CoV-2 nebo patogenů, které se potenciálně mohou objevit.

4.2.2 Hodnocení důkazů o cestách přenosu nebo klastrech

V rámci vyšetřování klastřů a šíření nákazy virem SARS-CoV-2 bylo používáno fylogenetického klastrování. Analýzy klastřů přenosu mohou směřovat lokální rozhodnutí, jaká regulační opatření jsou nutná pro předcházení budoucímu přenosu ve zjištěném ohnisku nákazy (101). Vzhledem k relativně pomalé evoluční rychlosti viru SARS-CoV-2 (tj. substituce jednoho nukleotidu každé dva týdny) je možné očekávat, že řada jednotlivých přenosů nebude zjistitelných na základě dat o genomické sekvenci (35). Fylogenetické klastrování sekvencí od pacientů s hypoteticky stejným zdrojem expozice by odpovídalo této expozici (přestože není spolehlivě prokázána). Naopak fylogenetická separace sekvencí viru od pacientů s hypoteticky stejným zdrojem expozice by přesvědčivě ukázala, že společný zdroj infekce byl identifikován nesprávně.

4.2.3 Kvantifikace období přenosu a sledování reprodukčního čísla v průběhu času

Fylogenetické přístupy založené na metodě molekulárních hodin mohou pomoci odhadnout horní a dolní hranice doby cirkulace vzorkovaných genetických linií viru v dané populaci (74, 90, 102-106). Tento přístup může poskytnout přesnější informace o období virového přenosu než klinická identifikace případů, zejména v časných nebo pozdních fázích epidemie, kdy je surveillance omezena. Studium rozdílů u detekovaných genomických sekvencí může určit, zda jde o klinicky nedetekovaný lokální přenos. V těchto prostředích, kde vznikne podezření na nedetekované šíření, budou muset být zavedeny programy pro vylepšenou diagnostickou surveillance.

Analýza genomických sekvencí může také odhadnout, kolik jedinců je v dané populaci infikováno jedním člověkem (reprodukční číslo $[R_0]$) a pomoci při hodnocení relativních změn rozměru epidemie v průběhu času. Tato informace může být využita pro posouzení specifických regulačních opatření.

4.2.4 Environmentální surveillance nad odpadními vodami a kaly

V případě patogenů, jako jsou polioviry, je monitorování odpadních vod důležitým nástrojem pro sledování tichého šíření virů v komunitě. Tento přístup poskytuje příležitosti detekovat šíření (předtím než byli klinicky detekováni první pacienti), odhadnout prevalenci a porozumět genetickému propojení a diverzitě (107, 108). Některé země potvrdily molekulární detekci RNA SARS-Cov-2 v odpadních vodách (109-115). Proto environmentální surveillance představuje slibný přístup, hlavně v prostředích s nízkou prevalencí, pro identifikaci nerozpoznaných přenašečů a může sloužit jako systém „včasného varování“ v případě objevení se SARS-CoV-2 nebo změny v prevalenci (109, 116, 117).

4.2.5 Zkoumání potenciálních reinfekcí

Sezónními koronaviry mohou být lidé infikováni opětovně (118). V případě SARS-CoV-2 byly zaznamenány případy reinfekce (119-124). V tomto kontextu mohou být genomické sekvence SARS-CoV-2 vzorkované z první a následujících epizod porovnány za účelem určení, zda nová detekce SARS-CoV-2 u daného jedince je reinfekcí nebo výsledkem prolongovaného vylučování viru (125, 126). Pokud sekvence z různých epizod mají výrazné genetické odlišnosti, jako výskyt v různých, dobře doložených liniích/kladech, následné epizody mohou být považovány za opakované infekce. Pro porozumění, zda je reinfekce spojena s antigeně odlišným kmenem, nebo souvisí s nedostatečnou ochrannou imunitní odpovědí na prvotní infekci, je nutné provést souběžné sérologické vyšetření. Sekvenování proto může pomoci lépe porozumět frekvenci a potenciálním rizikovým faktorům reinfekce (125, 126).

4.3 Monitorování evoluce SARS-CoV-2

4.3.1 Strukturované hodnocení případně relevantních mutací

Genomické sekvenování může být použito pro určení genetických substitucí, které mohou měnit charakteristiky

virové infekce (jde o změnu fenotypu), jakou jsou přenositelnost nebo virulence. Všechny viry během šíření procházejí genetickými změnami, ale velká většina získaných změn zásadně neovlivňuje chování viru. Nicméně, vzácné genetické změny u SARS-CoV-2 mohou způsobit podstatné změny fenotypu, které jsou z hlediska veřejného zdraví důležité. Dopad takových změn je náročné určit a prokázat. Obecně je složité s jistotou stanovit, zda zvýšení relativní prevalence dané mutace (daných mutací) v průběhu času je způsobeno fenotypickým rozdílem. Predominance specifické virové linie/kladu v populaci může být například způsobena spíše chováním infikované lidské populace než chováním viru samotného. Takové vzory jsou většinou stochastické. Nicméně pokud fylogenetická analýza naznačí potenciální epidemiologický nebo klinický vliv specifických mutací/obměn, je vyžadováno řádné provedení klinických genomických studií za účelem posouzení kandidátských variant, které mohou viru propůjčit klinicky pozorované změny fenotypu. Genetické změny navrhované jako příčiny změn fenotypu mají být posouzeny pomocí standardizovaných přístupů, zahrnujících studie modelování proteinů pro vyhodnocení potenciálního dopadu a *in vitro* a *in vivo* experimenty s mutantním virem (klony) se specifickými obávanými mutacemi pro potvrzení nebo vyvrácení specifických vlastností kandidátních variant. Byla ustavena specializovaná pracovní skupina SZO, odvozená od sítě referenčních laboratoří SZO pro SARS-CoV-2. Pracovní skupina pro evoluci SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 Evolution Working Group, SEWG) se zaměřuje na evoluci SARS-CoV-2 s cílem poskytnout SZO včasnou identifikaci a posouzení potenciálně relevantních mutací, stejně jako doporučení pro zmírnění rizik (16, 40, 127).

4.3.2 Monitorování vlivu evoluce SARS-CoV-2 na protipatření

Minimálně by celosvětová surveillance pro genomy SARS-CoV-2 měla v ideálním případě detekovat objevení se linií SARS-CoV-2 s genetickými variantami, které ovlivňují účinnost protipatření. Monitorování genomických změn SARS-CoV-2, které mohou snížit účinnost vakcín by mělo doprovázet uvedení vakcinační kampaně spojené se SARS-CoV-2. Monitorování a vyšetřování možných příčin selhání vakcíny by mělo zahrnovat genomická hodnocení pro určení potenciálních virových únikových mutantů. Sekvenování navíc může pomoci při identifikaci únikových mutantů u monoklonálních protilátek (128) a budoucích léčiv. Genomické monitorování za účelem určení lékové rezistence bylo používáno pro další patogeny, zahrnující chřipku, HIV a *Mycobacterium tuberculosis* (9, 129).

Genomické sekvenování také může být použito v rámci monitorování genetických změn, které ovlivňují molekulární diagnostiku. Použití více cílů při detekci SARS-CoV-2, jako u multiplexního PCR zaměřeného na dvě nebo více oblastí virového genomu, je nákladově efektivním přístupem umožňujícím snížení šance na falešně negativní výsledky testů jako následků virové evoluce (47, 127). Sekvenování virového genomu nebo cílového genu by mohlo být provedeno v případě, kdy dochází k opakovanému selhání při detekci jednoho cíle nebo nově sledovaných rozdílů v senzitivitě testů cílících na různé oblasti za účelem rozpoznání možné příčiny. Další informace naleznete v prozatímních pokynech pro diagnózu infekcí SARS-Cov-2 (47). Virové mutace také mohou ovlivnit antigenní nebo sérologické testy a genomické sekvenování může pomoci v rané fázi detekovat potenciální selhání takových testů (130-132).

4.3.3 Evoluce SARS-CoV-2 na rozhraní člověk-zvíře

Když se virus přenesel z jednoho druhu na jiný, virus se může adaptovat na nového hostitele. Receptor ACE2, na který cílí SARS-CoV-2, je podobný napříč lidmi a mnoha různými druhy zvířat (hlavně savců) (133, 134). Proto je zde potenciál pro přenos z člověka na zvíře (antropozoonóza). Zatímco homologie ACE2 naznačuje, že ostatní zvířata mohou být na SARS-CoV-2 citlivá, jiné proteiny, které jsou klíčové pro replikaci viru, se mohou lišit a bránit infekcím u těchto zvířat. Pro určení citlivosti konkrétních zvířat jsou proto zapotřebí příslušná reálná nebo experimentální data o infekci. Ukázalo se, že různá zvířata jsou na SARS-CoV-2 citlivá (15, 127, 135-151), a je známo, že SARS-CoV-2 je u některých zvířecích druhů přenosný (např. u norků a křečků). U některých zvířecích druhů byla také prokázána rezistence vůči infekci virem SARS-CoV-2. V sekvenci, která kóduje virový spike protein, jenž se váže na receptory ACE2, se mohou objevit genetické změny umožňující viru přeskočit na nové hostitelské druhy. Spike protein viru SARS-CoV-2, zejména doména RBD, je klíčovým cílem pro přirozenou a očkovaním indukovanou imunitu (28-32). Diverzifikace genomických oblastí kódujících spike protein již byly sledovány v případech, kdy lidé nakažení virem SARS-CoV-2 infikovali norky a dále byl pozorován sekundární zoonotický přenos zpět na člověka (149). Proto diverzifikace spike genu následující po výměně SARS-CoV-2 mezi člověkem a zvířetem pravděpodobně zvyšuje riziko objevení se kmenů, které mohou snadno reinfikovat člověka a mohou být spojeny s nižší účinností vakcíny nebo vnímavostí k léčbě monoklonálními protilátkami (33). Aby se těmto případům bránilo, je doporučeno, aby země prováděly hodnocení rizik týkající se potenciálního šíření na jiné druhy žijící s lidmi nebo v blízkosti lidí v domácím, venkovském, zemědělském nebo jiném zoologickém prostředí

(127, 152-154). Pro zajištění včasné detekce těchto případů je zapotřebí zavést strategie na zmírnění rizika a je nutné adekvátní monitorování. Monitorování vyžaduje zdroje a cílené strategie by měly být osvojeny všude, kde je to možné. Tato situace vyžaduje strategii One Health, v rámci které různé disciplíny pracují společně, včetně veřejnosti, klinického a pracovního lékařství, veterinárních úřadů a úřadů pro divokou zvěř, lesnictví a řízení přírodních zdrojů (127, 152, 155-157). Tato spolupráce by se také měla zaměřit na vývoj společného vyšetřování šíření nákazy a prevenci infekcí a kontrolní protokoly, testování potenciálně infikovaných lidí a zvířat a sdílení sekvenačních dat. Tam, kde je zjištěna antropozoonotická nebo sekundární zoonotická infekce, může sekvenování virového genomu pomoci při posuzování možných nových rizik spojených s těmito případy.

Metody

Tyto prozatímní pokyny byly vytvořeny v souběhu s implementační příručkou *Sekvenování genomu SARS-CoV-2: průvodce implementací pro maximální dopad na veřejné zdraví*. Implementační příručka byla vyvinuta na základě konzultací s odborníky zkušenými v různých oblastech genomického sekvenování z Global Laboratory Alliance of High Threat Pathogens (GLAD-HP), referenční sítě pro konfirmační testování na COVID-19 a Global Outbreak Alert and Response Network (GOARN). Po úvodních diskuzích skupiny pro technické psaní, vedené dočasným poradcem a členy Laboratorního týmu SZO pro COVID-19, byly hledány příspěvky od dalších odborníků uvnitř i mimo SZO a uskutečnila se dvě online setkání s cílem vyřešit dosud nezodpovězené otázky. Následně byly tyto prozatímní pokyny zpracovány pro národní zúčastněné subjekty, přičemž obsahovaly relevantní informace z těchto prozatímních pokynů a další relevantní informace pro toto cílové publikum. Tyto prozatímní pokyny byly následně rozeslány pro vložení dat odborníkům, kteří pomáhali při vypracování implementační příručky, referenční sítě pro konfirmační testování na COVID-19, regionálním ústředním laboratorním místům a dalším zúčastněným stranám, jak je uvedeno v poděkování.

Plány na aktualizaci

SZO neustále pozorně sleduje jakékoliv změny, které by mohly ovlivnit údaje uvedené v tomto odborném shrnutí. Pokud se jakékoliv okolnosti změní, SZO vydá jeho aktualizaci. V případě, že žádná aktualizace nenastane, platí tento dokument jeden rok od data vydání.

Příspěvatelé

Řídící skupina SZO: Celine Barnadas; Sebastian Cognat; Roger Evans; Bruce Allan Gordon; Varja Grabovac; Rebecca Grant; Francis Inbanathan; Frank Konings; Karen Nahapetyan; Marco Marklewitz; Marie-jo Medina; Kate Olive Medlicott; Mick Mulders; Mark D Perkins; Magdi Samaan; Oliver Schmoll, Maria Van Kerkhove; Karin von Eije; Joanna Zwetyenga.

Externí příspěvatelé: Kim Benschop, Netherlands National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, Netherlands; Antonino di Caro, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, Italy; Nuno Rodrigues Faria, Imperial College, London and University of Oxford, Oxford, United Kingdom; Tanya Golubchik, University of Oxford, Oxford, United Kingdom; Keith Hamilton, World Organization for Animal Health (OIE); Edward Holmes, University of Sydney, Sydney, Australia; Sarah C Hill, Royal Veterinary College, London and University of Oxford, Oxford, United Kingdom; Erik Karlsson, Institut Pasteur de Cambodge, Cambodia; Meng Ling Moi, Nagasaki University, Nagasaki, Japan; Leo Poon, Hong Kong University, Hong Kong Special Administrative Region (SAR), China; James Shepherd, University of Glasgow, Glasgow, United Kingdom; Etienne Simon-Loriere, Pasteur Institute, Paris, France. A další odborníci, kteří přispěli k vytvoření implementační příručky pro sekvenování SARS-CoV-2, která sloužila jako základ pro tento dokument: Kristian Andersen, Scripps Research, La Jolla, CA, USA; Julio Croda, Ministry of Health, Rio de Janeiro, Brazil; Túlio de Oliveira, University of KwaZulu-Natal, Durban, South Africa; Simon Dellicour, Free University of Brussels, Brussels, Belgium; Nathan Grubaugh, Yale University, New Haven, CT, USA; Liana Kafetzopoulou, KU Leuven – University of Leuven, Belgium; Marion Koopmans, Erasmus MC, Rotterdam, Netherlands; Tommy Lam, University of Hong Kong, Hong Kong SAR, China; Philippe Lemey, KU Leuven – University of Leuven, Belgium; Tze Minn Mak, National Centre for Infectious Diseases, Singapore; Marcio Roberto Nunes, Evandro Chagas Institute, Ananindeua, Pará, Brazil; Bas Oude Munnink, Erasmus MC, Rotterdam, Netherlands; Gustavo Palacios, United States Agency for International Development, Washington, DC, USA; Steven Pullan, Public Health England, London, United Kingdom; Timothy Vaughan, Eidgenössische Technische Hochschule Zurich (ETH Zurich), Zurich, Switzerland; Josh Quick, University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom; Andrew Rambaut, University of Edinburgh, Edinburgh, United Kingdom; Chantal Reusken, RIVM, Bilthoven, Netherlands; Tanja Stadler, Eidgenössische Technische Hochschule Zurich (ETH Zurich), Switzerland;

Marc Suchard, University of California at Los Angeles, Los Angeles, CA, USA; Huaiyu Tian, Beijing Normal University, Beijing, China; Lia van der Hoek, Amsterdam Medical Centre, Amsterdam, Netherlands; Erik Volz, Imperial College, London, United Kingdom.

Prohlášení o zájmech

Všichni přispěvatelé předložili dokumenty s prohlášením o zájmech. Přispěvatelé, u kterých byl zjištěn potenciální střet zájmů nebo zaujatost ve vztahu ke specifickým produktům, byli vyloučeni z poradenství při výběru platformy.

Finanční zdroj

Financováno SZO

References

- Fraser C, Donnelly CA, Cauchemez S, Hanage WP, Van Kerkhove MD, Hollingsworth TD, et al. Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): early findings. *Science*. 2009;324:1557–61. doi: 10.1126/science.1176062.
- Rambaut A, Holmes E. The early molecular epidemiology of the swine-origin A/H1N1 human influenza pandemic. *PLoS Curr*. 2009;1:RRN1003. doi: 10.1371/currents.rrn1003.
- Smith GJD, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature*. 2009;459:1122–5. doi: 10.1038/nature08182.
- Mena I, Nelson MI, Quezada-Monroy F, Dutta J, Cortes-Fernández R, Lara-Puente JH, et al. Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico. *eLife*. 2016;5:e16777. doi: 10.7554/eLife.16777.
- Ladner JT, Wiley MR, Mate S, Dudas G, Prieto K, Lovett S, et al. Evolution and spread of Ebola virus in Liberia, 2014–2015. *Cell Host Microbe*. 2015;18:659–69. doi: 10.1016/j.chom.2015.11.008.
- Stadler T, Kühnert D, Rasmussen DA, Plessis dL. Insights into the early epidemic spread of Ebola in Sierra Leone provided by viral sequence data. *PLoS Curr*. 2014;6. doi: 10.1371/currents.outbreaks.02bc6d927ecee7bbd33532ec8ba6a25f.
- Smits SL, Pas SD, Reusken CB, Haagmans BL, Pertile P, Cancedda C, et al. Genotypic anomaly in Ebola virus strains circulating in Magazine Wharf area, Freetown, Sierra Leone, 2015. *Euro Surveill*. 2015;20. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.40.30035.
- GLASS whole-genome sequencing for surveillance of antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/334354>, accessed 20 November 2020).
- The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guidance. Geneva: World Health Organization; 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/274443>, accessed 15 November 2020).
- Whole genome sequencing for foodborne disease surveillance: landscape paper. Geneva: World Health Organization; 2018 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/272430>, accessed 25 November 2020).
- Next-generation sequencing of influenza viruses: general information for national influenza centres. Geneva: World Health Organization; 2020 (https://www.who.int/influenza/girs_laboratory/national_influenza_centres/NGS_guidance_for_NICs.pdf?ua=1, accessed 20 November 2020).
- GISAID (<https://www.gisaid.org/>, accessed 5 January 2021).
- Genomic epidemiology of novel coronavirus: global subsampling [website]. Nextstrain; 2020 (<https://nextstrain.org/ncov/global>, accessed 4 December 2020).
- Volz E, Baguelin M, Bhatia S, Boonyasiri A, Cori A, Cucunuba Z, et al. Report 5 - phylogenetic analysis of SARS-CoV-2. London: Imperial College London; 2020 (<http://www.imperial.ac.uk/medicine/departments/school-public-health/infectious-disease-epidemiology/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-5-phylogenetics-of-sars-cov-2/>, accessed 26 June 2020).
- Oude Munnink BB, Sikkema RS, Nieuwenhuijse DF, Molenaar RJ, Munger E, Molenkamp R, et al. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science*. 2020. doi: 10.1126/science.abe5901.
- Coronavirus disease (COVID-19): situation report – 185. Geneva: World Health Organization; 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200723-covid-19-sitrep-185.pdf?sfvrsn=9395b7bf_2, accessed 15 November 2020).
- Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health. Geneva: World Health Organization; 2020. (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338480/9789240018440-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, accessed 8 January 2021)
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV); 2020 (<https://talk.ictvonline.org/>, accessed 27 July 2020).
- Gorbalenya ABS, Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, et al. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5:536–44. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.
- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382:727–33. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866:165878. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165878.
- Yoshimoto FK. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2 or n-CoV19), the cause of COVID-19.

- Protein J. 2020;39:198–216. doi: 10.1007/s10930-020-09901-4.
23. Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*. 2020;181:914–21 e10. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.011.
 24. 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*. 2020;395:565–74. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
 25. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367:1444–8. doi: 10.1126/science.abb2762.
 26. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24:422. doi: 10.1186/s13054-020-03120-0.
 27. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181:271–80 e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
 28. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity*. 2020;52:583–9. doi: 10.1016/j.immuni.2020.03.007.
 29. Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*. 2020;369:643–50. doi: 10.1126/science.abc5902.
 30. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*. 2020;17:613–20. doi: 10.1038/s41423-020-0400-4.
 31. Shi R, Shan C, Duan X, Chen Z, Liu P, Song J, et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;584:120–4. doi: 10.1038/s41586-020-2381-y.
 32. Rogers TF, Zhao F, Huang D, Beutler N, Burns A, He WT, et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. *Science*. 2020;369:956–63. doi: 10.1126/science.abc7520.
 33. 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*. 2020;182:1284–94 e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.07.012.
 34. Candido DS, Claro IM, de Jesus JG, Souza WM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science*. 2020;369:1255–60. doi: 10.1126/science.abd2161.
 35. van Dorp L, Acman M, Richard D, Shaw LP, Ford CE, Ormond L, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol*. 2020;83:104351. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104351.
 36. Xu W, Zhang Y, Wang H, Zhu Z, Mao N, Mulders MN, et al. Global and national laboratory networks support high quality surveillance for measles and rubella. *Int Health*. 2017;9:184–9. doi: 10.1093/inthealth/ihx017.
 37. Mulders MN, Serhan F, Goodson JL, Icenogle J, Johnson BW, Rota PA. Expansion of surveillance for vaccine-preventable diseases: building on the global polio laboratory network and the global measles and rubella laboratory network platforms. *J Infect Dis*. 2017;216:S324–S30. doi: 10.1093/infdis/jix077.
 38. Diop OM, Kew OM, de Gourville EM, Pallansch MA. The global polio laboratory network as a platform for the viral vaccine-preventable and emerging diseases laboratory networks. *J Infect Dis*. 2017;216:S299–S307. doi: 10.1093/infdis/jix092.
 39. Hay AJ, McCauley JW. The WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS): a future perspective. *Influenza Other Respir Viruses*. 2018;12:551–7. doi: 10.1111/irv.12565.
 40. Terms of reference for WHO reference laboratories providing confirmatory testing for COVID-19. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/publications/m/item/terms-of-reference-for-who-reference-laboratories-providing-confirmatory-testing-for-covid-19>, accessed 26 June 2020).
 41. RubeNS database for rubella sequences (<http://www.who-rubella.org/>, accessed 26 June 2020).
 42. MeaNS: Measles nucleotide surveillance (<http://www.who-measles.org>, accessed 26 June 2020).
 43. Roy S, LaFramboise WA, Nikiforov YE, Nikiforova MN, Routbort MJ, Pfeifer J, et al. Next-generation sequencing informatics: challenges and strategies for implementation in a clinical environment. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140:958–75. doi: 10.5858/arpa.2015-0507-RA.
 44. Mutenherwa F, Wassenaar DR, de Oliveira T. Experts' perspectives on key ethical issues associated with HIV phylogenetics as applied in HIV transmission dynamics research. *J Empir Res Hum Res Ethics*. 2019;14:61–77. doi: 10.1177/1556264618809608.
 45. Emanuel EJ, Wendler D, Grady C. What makes clinical research ethical? *JAMA*. 2000;283:2701–11. doi: 10.1001/jama.283.20.2701.
 46. WHO guidelines on ethical issues in public health surveillance. Geneva: World Health Organization; 2017 (<https://www.who.int/ethics/publications/public-health-surveillance/en/>, accessed 15 November 2020).
 47. Diagnostic testing for SARS-CoV-2: interim guidance. 11 September 2020. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>, accessed 6 December 2020).
 48. MacCannell D. SARS-CoV-2 sequencing (https://github.com/CDCgov/SARS-CoV-2_Sequencing, accessed 1 November 2020).
 49. Cesare MD. Probe-based target enrichment of SARS-CoV-2 [Protocol]. Univeristy of Oxford; 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bd5di826.
 50. Vogels CBF, Brito AF, Wyllie AL, Fauver JR, Ott IM, Kalinich CC, et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT–qPCR primer–probe sets. *Nat Microbiol*. 2020;5:1299–1305. doi: 10.1038/s41564-020-0761-6.
 51. Quick J, Grubaugh ND, Pullan ST, Claro IM, Smith AD, Gangavarapu K, et al. Multiplex PCR method for minION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nat Protoc*. 2017;12:1261–76. doi: 10.1038/nprot.2017.066.
 52. Grubaugh ND, Gangavarapu K, Quick J, Matteson NL, De Jesus JG, Main BJ, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol*. 2019;20:8. doi: 10.1186/s13059-018-1618-7.
 53. Matteson N, Grubaugh N, Gangavarapu K, Quick J, Loman N, Andersen K. PrimalSeq: Generation of tiled virus amplicons for MiSeq sequencing [Protocol]. 2020. doi: 10.17504/protocols.io.bez7jf9n.
 54. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol*. 2017;35:833–44. doi: 10.1038/nbt.3935.
 55. Bragg L, Tyson GW. Metagenomics using next-generation sequencing. *Methods Mol Biol*. 2014;1096:183–201. doi: 10.1007/978-1-62703-712-9_15.

56. Xiao M, Liu X, Ji J, Li M, Li J, Yang L, et al. Multiple approaches for massively parallel sequencing of SARS-CoV-2 genomes directly from clinical samples. *Genome Med.* 2020;12:57. doi: 10.1186/s13073-020-00751-4.
57. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol.* 2020;5:1403–7. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5.
58. Singer J, Gifford R, Cotten M, Robertson D. CoV-GLUE: A web application for tracking SARS-CoV-2 genomic variation. Preprints. 2020:2020060225. doi: 10.20944/preprints202006.0225.v1.
59. CoVsurver: mutation analysis of hCoV-19. GISAID (<https://www.gisaid.org/epiflu-applications/covsurver-mutations-app/>, accessed 11 December 2020).
60. Pangolin COVID-19 lineage assigner (<https://pangolin.cog-uk.io/>, accessed 11 December 2020).
61. Fauquet CM, Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. *Virology.* 2005;2:64. doi: 10.1186/1743-422X-2-64.
62. Alm E, Broberg EK, Connor T, Hodcroft EB, Komissarov AB, Maurer-Stroh S, et al. Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001410.
63. Policy statement on data sharing by WHO in the context of public health emergencies (as of 13 April 2016). Geneva: World Health Organization Geneva; 2016 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/254440>, accessed 25 November 2020).
64. Pandemic influenza preparedness framework, for the sharing of influenza viruses and access to vaccines and other benefits. Geneva: World Health Organization; 2011 (https://apps.who.int/gb/pip/pdf_files/pandemic-influenza-preparedness-en.pdf, accessed 20 November 2020).
65. Executive Board, 140th session, provisional agenda item 7.5 Review of the pandemic influenza preparedness framework, report by the Director-General. Geneva: World Health Organization; 2016 (https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB140/B140_16-en.pdf?ua=1, accessed 15 November 2020).
66. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509>, accessed 6 December 2020).
67. Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331639>, accessed 4 December 2020).
68. Molecular assays to diagnose COVID-19: summary table of available protocols. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/who-documents-detail/molecular-assays-to-diagnose-covid-19-summary-table-of-available-protocols>, accessed 4 December 2020).
69. Fact sheet: genetic sequence data and databases. Geneva: World Health Organization; 2018 (https://www.who.int/influenza/pip/GSD_EN_V2_10Sep2018.pdf?ua=1, accessed 11 December 2020).
70. medRxiv: The Preprint Server for Health Sciences (<https://www.medrxiv.org/>, accessed 1 November 2020).
71. bioRxiv: The Preprint Server for Biology (<https://www.biorxiv.org/>, accessed 1 November 2020).
72. Virological (<https://virological.org/>, accessed 1 November 2020).
73. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579:265–9. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
74. Lu J, du Plessis L, Liu Z, Hill V, Kang M, Lin H, et al. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 in Guangdong Province, China. *Cell.* 2020;181:997–1003.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.023.
75. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579:270–3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
76. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
77. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases by RT-PCR. Hong Kong University Medical School; 2020 (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/peiris-protocol-16-1-20.pdf?sfvrsn=af1aac73_4, accessed 1 December 2020).
78. Melén K, Kakkola L, He F, Airene K, Vapalahti O, Karlberg H, et al. Production, purification and immunogenicity of recombinant Ebola virus proteins: a comparison of Freund's adjuvant and adjuvant system 03. *J Virol Methods.* 2017;242:35–45. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.12.014.
79. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Geneva: World Health Organization (<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>, accessed 26 June 2020).
80. Ren Y, Zhou Z, Liu J, Lin L, Li S, Wang H, et al. A strategy for searching antigenic regions in the SARS-CoV spike protein. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2003;1:207–15. doi: 10.1016/s1672-0229(03)01026-x.
81. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382:1199–207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
82. Andersen K. Clock and TMRCA based on 27 genomes. Scripps Research; 2020 (<https://virological.org/t/clock-and-tmrca-based-on-27-genomes/347>, accessed 26 June 2020).
83. Report of the WHO–China Joint Mission on coronavirus disease 2019 (COVID-19). Geneva: World Health Organization; 2020 ([https://www.who.int/publications-detail-redirect/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail-redirect/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-(covid-19)), accessed 15 July 2020).
84. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17:181–92. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.
85. Grenfell BT, Pybus OG, Gog JR, Wood JLN, Daly JM, Mumford JA, et al. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. *Science.* 2004;303:327–32. doi: 10.1126/science.1090727.
86. Volz EM, Koelle K, Bedford T. Viral phylodynamics. *PLoS Comput Biol.* 2013;9. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002947.
87. Pybus OG, Rambaut A. Evolutionary analysis of the dynamics of viral infectious disease. *Nat Rev Genet.* 2009;10:540–50. doi: 10.1038/nrg2583.

88. Lai A, Bergna A, Caucci S, Clementi N, Vicenti I, Dragoni F, et al. Molecular tracing of SARS-CoV-2 in Italy in the first three months of the epidemic. *Viruses*. 2020;12. doi: 10.3390/v12080798.
89. Fauver JR, Petrone ME, Hodcroft EB, Shioda K, Ehrlich HY, Watts AG, et al. Coast-to-coast spread of SARS-CoV-2 during the early epidemic in the United States. *Cell*. 2020;181:990–6.e5. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.021.
90. Candido DdS, Claro IM, Jesus dJG, Souza dWM, Moreira FRR, Dellicour S, et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science*. 2020;369:1255–60. doi: 10.1101/2020.06.11.20128249.
91. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: a SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
92. Lemey P, Rambaut A, Bedford T, Faria N, Bielejec F, Baele G, et al. Unifying viral genetics and human transportation data to predict the global transmission dynamics of human influenza H3N2. *PLoS Pathog*. 2014;10:e1003932. doi: 10.1371/journal.ppat.1003932.
93. Dudas G, Carvalho LM, Bedford T, Tatem AJ, Baele G, Faria NR, et al. Virus genomes reveal factors that spread and sustained the Ebola epidemic. *Nature*. 2017;544:309–15. doi: 10.1038/nature22040.
94. Dellicour S, Baele G, Dudas G, Faria NR, Pybus OG, Suchard MA, et al. Phylodynamic assessment of intervention strategies for the West African Ebola virus outbreak. *Nat Commun*. 2018;9:1–9. doi: 10.1038/s41467-018-03763-2.
95. Lemey P, Rambaut A, Drummond AJ, Suchard MA. Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Comput Biol*. 2009;5:e1000520. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000520.
96. Lemey P, Rambaut A, Welch JJ, Suchard MA. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. *Mol Biol Evol*. 2010;27:1877–85. doi: 10.1093/molbev/msq067.
97. Bloomquist EW, Lemey P, Suchard MA. Three roads diverged? Routes to phylogeographic inference. *Trends Ecol Evol*. 2010;25:626–32. doi: 10.1016/j.tree.2010.08.010.
98. Faria NR, Suchard MA, Rambaut A, Lemey P. Towards a quantitative understanding of viral phylogeography. *Curr Opin Virol*. 2011;1:423–9. doi: 10.1016/j.coviro.2011.10.003.
99. Lemey P, Hong S, Hill V, Baele G, Poletto C, Colizza V, et al. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: A SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv*. 2020:165464. doi: 10.1101/2020.06.22.165464.
100. Reusken CB, Buiting A, Bleeker-Rovers C, Diederens B, Hooiveld M, Friesema I, et al. Rapid assessment of regional SARS-CoV-2 community transmission through a convenience sample of healthcare workers, the Netherlands, March 2020. *Euro Surveill*. 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.12.2000334.
101. Worby CJ, Lipsitch M, Hanage WP. Shared genomic variants: identification of transmission routes using pathogen deep-sequence data. *Am J Epidemiol*. 2017;186:1209–16. doi: 10.1093/aje/kwx182.
102. Duchene S, Featherstone L, Haritopoulou-Sinanidou M, Rambaut A, Lemey P, Baele G. Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 2020:077735. doi: 10.1101/2020.05.04.077735.
103. Volz E, Fu H, Wang H, Xi X, Chen W, Liu D, et al. Genomic epidemiology of a densely sampled COVID19 outbreak in China. *medRxiv*. 2020:20033365. doi: 10.1101/2020.03.09.20033365.
104. Bedford T, Greninger AL, Roychoudhury P, Starita LM, Famulare M, Huang M-L, et al. Cryptic transmission of SARS-CoV-2 in Washington State. *Science*. 2020;370:571–5. doi: 10.1101/2020.04.02.20051417.
105. Zehender G, Lai A, Bergna A, Meroni L, Riva A, Balotta C, et al. Genomic characterization and phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 in Italy. *J Med Virol*. 2020;92:1637–40. doi: 10.1002/jmv.25794.
106. Worobey MA-O, Pekar JA-O, Larsen BA-O, Nelson MA-O, Hill V, Joy JB, et al. The emergence of SARS-CoV-2 in Europe and North America. *Science*. 2020;370:564–70. doi: 10.1126/science.abc8169.
107. Asghar H, Diop OM, Weldegebriel G, Malik F, Shetty S, El Bassioni L, et al. Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. *J Infect Dis*. 2014;210 Suppl 1:S294–303. doi: 10.1093/infdis/jiu384.
108. Paul JR, Trask JD, Gard S. Poliovirus in urban sewage. *J Exp Med*. 1940;71:765–77. doi: 10.1084/jem.71.6.765.
109. Nemudryi A, Nemudraia A, Wiegand T, Surya K, Buyukyuruk M, Cicha C, et al. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *Cell Rep Med*. 2020;1:100098. doi: 10.1016/j.xcr.2020.100098.
110. Wu F, Zhang J, Xiao A, Gu X, Lee WL, Armas F, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *mSystems*. 2020;5. doi: 10.1128/mSystems.00614-20.
111. Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, et al. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci Total Environ*. 2020;728:138764. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764.
112. Wurtzer SMV, Mouchel JM, Maday Y, Teyssou R, Richard E, Almayrac JL, Moulin L. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.04.12.20062679.
113. La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, Bonanno Ferraro G, Veneri C, Bonadonna L, et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci Total Environ*. 2020;736:139652. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139652.
114. Gertjan Medema LH, Goffe Elsinga, Ronald Italiaander, Anke Brouwer. Presence of SARS-coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environ Sci Technol Lett*. 2020. doi: 10.1021/acs.estlett.0c00357.
115. Lodder W, de Roda Husman AM. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:533–4. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30087-X.
116. Scientific brief: status of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-sci-brief-environmentalSampling-2020-1>, accessed 12 December 2020).
117. Rapid expert consultation on environmental surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater: summary report. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/water-and-sanitation/publications/2020/rapid-expert-consultation-on-environmental-surveillance-of-sars-cov-2-in-wastewater-summary-report-2020>, accessed 12 December 2020).
118. Edridge AWD, Kaczorowska JM, Hoste ACR, Bakker M, Klein M, Jebbink MF, et al. Coronavirus protective immunity is short lasting. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.05.11.20086439.

119. To KK, Hung IF, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Tam AR, et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1275.
120. Goldman JD, Wang K, Roltgen K, Nielsen SCA, Roach JC, Naccache SN, et al. Reinfection with SARS-CoV-2 and failure of humoral immunity: a case report. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.09.22.20192443.
121. Gupta V, Bhojar RC, Jain A, Srivastava S, Upadhayay R, Imran M, et al. Asymptomatic reinfection in two healthcare workers from India with genetically distinct SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1451.
122. Mulder M, van der Vegt D, Oude Munnink BB, GeurtsvanKessel CH, van de Bovenkamp J, Sikkema RS, et al. Reinfection of SARS-CoV-2 in an immunocompromised patient: a case report. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1538.
123. Tillett RL, Sevinsky JR, Hartley PD, Kerwin H, Crawford N, Gorzalski A, et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *Lancet Infect Dis*. 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30764-7.
124. Van Elslande J, Vermeersch P, Vandervoort K, Wawina-Bokalanga T, Vanmechelen B, Wollants E, et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection by a phylogenetically distinct strain. *Clin Infect Dis*. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1330.
125. Common investigation protocol for investigating suspected SARS-CoV-2 reinfection. Atlanta: United States Centers for Disease Control and Prevention; 2020 (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/php/reinfection.html>, accessed 1 November 2020).
126. Reinfection with SARS-CoV-2: considerations for public health response. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2020 (<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Re-infection-and-viral-shedding-threat-assessment-brief.pdf>, accessed 1 November 2020).
127. Emergencies preparedness, response: SARS-CoV-2 variants. Disease outbreak news. Geneva: World Health Organization; 31 December 2020 (<https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov2-variants/en/>, accessed 31 December 2020).
128. Baum A, Fulton BO, Wloga E, Copin R, Pascal KE, Russo V, et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. *Science*. 2020;369:1014–8. doi: 10.1126/science.abd0831.
129. Inzaule SC, Hamers RL, Paredes R, Yang C, Schuurman R, Rinke de Wit TF. The evolving landscape of HIV drug resistance diagnostics for expanding testing in resource-limited settings. *AIDS Rev*. 2017;19:219–30 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28182618>, accessed 15 November 2020).
130. Sepulveda N, Phelan J, Diez-Benavente E, Campino S, Clark TG, Hopkins H, et al. Global analysis of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein-2 (pfrp2) and pfrp3 gene deletions using whole-genome sequencing data and meta-analysis. *Infect Genet Evol*. 2018;62:211–9. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.039.
131. Cremer J, Hofstra SHI, van Heiningen F, Veldhuijzen IK, van Benthem BHB, Benschop KSM. Genetic variation of Hepatitis B surface antigen among acute and chronic Hepatitis B virus infections in the Netherlands. *J Med Virol*. 2018;90:1576–85. doi: 10.1002/jmv.25232.
132. Hollinger FB. Hepatitis B virus genetic diversity and its impact on diagnostic assays. *J Viral Hepat*. 2007;14 Suppl 1:11–5. doi: 10.1111/j.1365-2893.2007.00910.x.
133. Lam SD, Bordin N, Waman VP, Scholes HM, Ashford P, Sen N, et al. SARS-CoV-2 spike protein predicted to form complexes with host receptor protein orthologues from a broad range of mammals. *Sci Rep*. 2020;10:16471. doi: 10.1038/s41598-020-71936-5.
134. Damas J, Hughes GM, Keough KC, Painter CA, Persky NS, Corbo M, et al. Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in vertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117:22311–22. doi: 10.1073/pnas.2010146117.
135. Freuling CM, Breithaupt A, Müller T, Sehl J, Balkema-Buschmann A, Rissmann M, et al. Susceptibility of raccoon dogs for experimental SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.08.19.256800v1.
136. Schlottau K, Rissmann M, Graaf A, Schon J, Sehl J, Wylezich C, et al. SARS-CoV-2 in fruit bats, ferrets, pigs, and chickens: an experimental transmission study. *Lancet Microbe*. 2020;1:e218–e25. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30089-6.
137. Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*. 2020;368:1016–20. doi: 10.1126/science.abb7015.
138. Kim YI, Kim SG, Kim SM, Kim EH, Park SJ, Yu KM, et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe*. 2020;27:704–9 e2. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.023.
139. Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N Engl J Med*. 2020;383:592–4. doi: 10.1056/NEJMc2013400.
140. Ruiz-Arrondo I, Portillo A, Palomar AM, Santibanez S, Santibanez P, Cervera C, et al. Detection of SARS-CoV-2 in pets living with COVID-19 owners diagnosed during the COVID-19 lockdown in Spain: a case of an asymptomatic cat with SARS-CoV-2 in Europe. *Transbound Emerg Dis*. 2020. doi: 10.1111/tbed.13803.
141. Richard M, Kok A, de Meulder D, Bestebroer TM, Lamers MM, Okba NMA, et al. SARS-CoV-2 is transmitted via contact and via the air between ferrets. *Nat Commun*. 2020;11:3496. doi: 10.1038/s41467-020-17367-2.
142. Sia SF, Yan LM, Chin AWH, Fung K, Choy KT, Wong AYL, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2342-5.
143. Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, van Doremalen N, Pérez-Pérez L, Schulz J, et al. Respiratory disease and virus shedding in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.03.21.001628v1.
144. Zhao Y, Wang J, Kuang D, Xu J, Yang M, Ma C, et al. Susceptibility of tree shrew to SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep*. 2020;10:16007. doi: 10.1038/s41598-020-72563-w.
145. Woolsey C, Borisevich V, Prasad AN, Agans KN, Deer DJ, Dobias NS, et al. Establishment of an African green monkey model for COVID-19. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.05.17.100289.
146. Lu S, Zhao Y, Yu W, Yang Y, Gao J, Wang J, et al. Comparison of nonhuman primates identified the suitable model for COVID-19. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5:157. doi: 10.1038/s41392-020-00269-6.
147. Sit THC, Brackman CJ, Ip SM, Tam KWS, Law PYT, To EMW, et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature*. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2334-5.
148. Newman A, Smith D, Ghai RR, Wallace RM, Torchetti MK, Loiacono C, et al. First reported cases of SARS-CoV-2 infection in companion animals - New York, March–April 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69:710–3. doi: 10.15585/mmwr.mm6923e3.

149. Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, Harders F, Oude Munnink BB, Hakze-van der Honing RW, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill.* 2020;25. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005.
150. Cahan E. COVID-19 hits U.S. mink farms after ripping through Europe. *Science Magazine.* 2020 (<https://www.sciencemag.org/news/2020/08/covid-19-hits-us-mink-farms-after-ripping-through-europe>, accessed 13 November 2020).
151. Abdel-Moneim AS, Abdelwhab EM. Evidence for SARS-CoV-2 infection of animal hosts. *Pathogens.* 2020;9. doi: 10.3390/pathogens9070529.
152. Exposure of humans or animals to SARS-CoV-2 from wild, livestock, companion and aquatic animals. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020 (<http://www.fao.org/3/ca9959en/ca9959en.pdf>, accessed 1 December 2020).
153. Guidelines to mitigate the impact of the COVID-19 pandemic on livestock production and animal health. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020 (<http://www.fao.org/3/ca9177en/CA9177EN.pdf>, accessed 1 December 2020).
154. Guidance on working with farmed animals of species susceptible to infection with SARS-CoV-2. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2020 (https://www.oie.int/fileadmin/Home/MM/Draft_OIE_Guidance_farmed_animals_cleanMS05.11.pdf, accessed 8 December 2020).
155. El Zowalaty ME, Jarhult JD. From SARS to COVID-19: a previously unknown SARS-related coronavirus (SARS-CoV-2) of pandemic potential infecting humans: call for a One Health approach. *One Health.* 2020;9:100124. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100124.
156. Leroy EM, Ar Gouilh M, Brugere-Picoux J. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a One-Health strategy to control the COVID-19 pandemic. *One Health.* 2020;10:100133. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100133.
157. Guidelines for working with free-ranging wild mammals in the era of the COVID-19 pandemic. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2020 (https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/COV-19/A_WHSG_and_OIE_COVID-19_Guidelines.pdf, accessed 10 December 2020).

Příloha I: Klíčové otázky ke zvážení před zahájením programu pro sekvenování

- (1) Jaké jsou očekávané výstupy programu pro sekvenování?
- (2) Jaké vzorky by měly být sekvenovány, aby bylo dosaženo očekávaných výstupů určených v kroku 1? Které zdroje metadat nebo doplňujících dat jsou zásadní?
- (3) Kdo jsou klíčové zúčastněné strany a za co odpovídají? Jak mohou být efektivně zapojeny?
- (4) Jak mohou být vzorky a informace podle potřeby rychle a vhodně přenášeny mezi zúčastněnými stranami?
- (5) Je projekt navržen v souladu s místními, národními a mezinárodními zákony a etickými doporučenými postupy?
- (6) Jsou k dispozici adekvátní finanční zdroje, vybavení a lidské zdroje pro splnění všech fází získávání vzorků, sekvenování v mokré laboratoři, bioinformatických, fylogenetických a dalších analýz, sdílení dat a komunikace včasných výsledků příslušným zúčastněným stranám?
- (7) Jak může být dosaženo cílů, aniž by byl narušen chod dalších oblastí laboratorní práce, jako je klinická diagnostika, a nedocházelo ke zdvojení úsilí?

Příloha II: Kontrolní seznam pro nastavení programu pro sekvenování SARS-CoV-2

Cíle

- ┌ Definujte očekávané cíle programu pro sekvenování; jaké informace sekvenování pravděpodobně poskytne navíc nebo které budou nákladově efektivnější v porovnání s existujícími přístupy?

Určení a zapojení zúčastněných stran

- ┌ Určete klíčové zúčastněné strany.
- ┌ Prodiskutujte cíle programu s vedoucími zástupci zúčastněných skupin a pro každou skupinu definujte její odpovědnosti.
- ┌ Mějte na paměti sdílení edukačních materiálů týkajících se potenciálního sekvenování SARS-CoV-2 a souvisejících požadavků se zúčastněnými stranami.
- ┌ Určete potřebná propojení mezi klíčovými zúčastněnými stranami, která umožní rychlý pohyb vzorků, požadavků na informace a použití výsledků.
- ┌ Ujistěte se, že mezi zúčastněnými stranami jsou zavedena vhodná propojení.

Technické aspekty

- ┌ V rámci diskuze s vedoucími členy týmů pro identifikaci případů a analytických týmů určete úroveň genomického sekvenování nutnou pro dosažení požadovaných cílů.
- ┌ V rámci diskuze s vedoucími členy týmů pro identifikaci případů a analytických týmů určete, jaká metadata jsou nutná pro dosažení požadovaných cílů.
- ┌ Zvolte vhodné protokoly pro přípravu vzorků a knihoven.
- ┌ Zvolte vhodné bioinformatické protokoly.
- ┌ Zvolte vhodné analytické protokoly.

Logistické aspekty

- ┌ Zvažte, kde se bude sekvenování a analýza provádět (např. v existující diagnostické laboratoři nebo externí komerční nebo akademické laboratoři).
- ┌ Zvolte vhodné zdroje financování, které budou dostačující pro podporu laboratorního sekvenování, uchovávání a analýzy dat.
- ┌ Zajistěte, aby bylo dostupné dostatečné množství činidel a výpočetních zdrojů a aby mohly být trvale podle potřeby dodávány.
- ┌ Zajistěte, aby byly k dispozici dostatečné a vhodné lidské zdroje pro plnění programu na každé jeho úrovni.
- ┌ Zajistěte, aby mohla být udržována integrita vzorků na všech stupních pipeline prostřednictvím studeného řetězce nebo dalších opatření.
- ┌ Zajistěte adekvátní sběr a uchovávání metadat a správné propojení s biologickými vzorky.
- ┌ Vezměte v úvahu možný dodatečný tlak, který sekvenování vyvine na existující nástroje reakce v oblasti veřejného zdraví a hledejte cesty pro jeho zmírnění.
- ┌ Pro případy rozsáhlých programů pro sekvenování určete, jak zefektivnit proces sdílení dat a vzorků mezi zúčastněnými skupinami (např. proveditelnost používání jednovzorkové identifikace a identických formátů metadat).

Zajištění bezpečného a etického prostředí

- ┌ Provádějte odpovídající etické kontroly generování, používání a uchovávání sekvenačních dat a souvisejících metadat.
- ┌ Provádějte hodnocení rizik sekvenovacích činností pro zajištění náležitě biobezpečnosti ve všech fázích.
- ┌ Provádějte hodnocení rizik sekvenovacích činností pro zajištění náležitě bioochrany ve všech fázích, pokud je to relevantní podle národního a regionálního práva.

- ┌ Zvažte dopad na lidské zdroje, včetně realokace personálu nebo najmutí dalšího personálu pro udržení individuální pracovní zátěže na rozumné úrovni.
- ┌ Zajistěte, aby personál mohl dojíždět do práce a mohl pracovat bezpečně a v souladu s národními doporučenými postupy pro prevenci přenosu během pandemie COVID-19.
- ┌ Definujte strategie pro udržení programu pro sekvenování v případě, že klíčoví členové personálu onemocní nebo se budou muset izolovat.

Sdílení dat

- ┌ Zajistěte, aby se všechny zúčastněné strany shodly na tom, které sekvence a metadata budou sdílena veřejně, prostřednictvím jaké platformy a kdy.
- ┌ Zajistěte, aby se všechny zúčastněné strany shodly na tom, která metadata mají být vyhrazena pouze pro limitovaný počet lokálních uživatelů, a navrhnete strategie pro bezpečné sdílení těchto dat.
- ┌ Zajistěte, aby sdílení dat probíhalo ve shodě s národními a mezinárodními regulačními rámci.

Hodnocení

- ┌ Zajistěte pravidelné příležitosti pro hodnocení programu pro sekvenování, zahrnující úspěchy a přetrvávající problémy.
- ┌ Zajistěte, aby byly zavedeny rámce pro monitorování a hodnocení s cílem posoudit výkon programu pro sekvenování jak z hlediska technického (kvality atd.), tak ve smyslu úspěšnosti programu v plnění svých cílů.

Příloha III: Běžně používané platformy pro sekvenovací analýzy SARS-CoV-2 a jejich charakteristiky

Nástroj	Výhody	Omezení	Doba běhu (run-time) nástroje	Propustnost sekvenování	Relativní srovnání nákladů
Sangerova metoda sekvenování	Široká dostupnost Snadné použití Nákladově efektivní sekvenování pokud je požadováno méně úkolů	Velmi nízká propustnost Amplikony (často ne více než 1 000 bp) musí být jednotlivě zesíleny a sekvenovány Drahe pro celé genomy Nevhodné pro metagenomiku	Typicky několik hodin	100 kB-2 Mb na jeden běh	Relativně nízké náklady pro méně úkolů
Illumina (např. iSeq, MiniSeq, MiSeq, NextSeq, HiSeq, NovaSeq)	Možnost velmi vysokých výnosů sekvenování Velmi vysoká přesnost iSeq je přenosný Metody pro zacházení s daty jsou dobře zavedeny	S výjimkou Illumina iSeq drahý nákup a údržba v porovnání s některými jinými platformami Maximální délka readu 2 x 300 bp	10–55 h, v závislosti na přístroji	1,2–6000 Gb, v závislosti na přístroji	Vysoké náklady na údržbu a spuštění Mírné provozní náklady
Oxford Nanopore Technologies (Flongle, MinION, GridION, PromethION)	Přenosné, přímé sekvenování Data v reálném čase Nízké náklady na spuštění a údržbu Může zastavit sekvenování, jakmile je získán dostatek data Dosažitelná velmi dlouhá délka readu (přesahující celou délku genomu SARS-CoV-2)	Problémy s homopolymery Chybovost na jeden read je ~5 % (R9.4 flowcells), takže pro získání vysoce přesných konsenzuálních sekvencí je použití vhodné pipeline zásadní V současné době nevhodné pro určování intrahostitelských variací, pokud není použito sekvenování replikátu (52)	Ready jsou dostupné okamžitě Může být monitorováno a v případě potřeby může běžet až několik dní	V rozsahu od < 2 Gb u Flongle flow cell do 220 Gb u PromethION flow cell V případě PromethION u může být použito až 48 průtokových komůrek	Relativně nízké náklady na spuštění a žádné náklady na údržbu Mírné provozní náklady
Ion Torrent	Rychlý obrat, jakmile sekvenování začne	Problémy s homopolymery Drahý nákup Maximální typická délka readu okolo 400 bp	2 h – 1 den, v závislosti na čipu a zařízení	30 Mb – 50 Gb v závislosti na zařízení a čipech	Mírné náklady

^aVýčet různých nástrojů má poskytnout přehled nástrojů nejběžněji používaných pro sekvenování genomu SARS-CoV-2 a nevyjadřuje podporu SZO těchto produktů.

^bOdhady různých nákladů naleznete v (8).

SZO neustále pozorně sleduje jakékoliv změny, které by mohly ovlivnit údaje uvedené v tomto odborném shrnutí. Pokud se jakékoliv okolnosti změní, SZO vydá jeho aktualizaci. V případě, že žádná aktualizace nenastane, platí tento dokument 2 roky od data vydání.

© Světová zdravotnická organizace 2021. Některá práva vyhrazena. This work is available under the [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) licence.

Referenční číslo SZO: [WHO/2019-nCoV/genomic_sequencing/2021.1](https://www.who.int/publications/i/item/WHO/2019-nCoV/genomic_sequencing/2021.1)