

SARS-CoV-2 a jeho nejdiskutovanější varianty

**R. Bolehovská¹, R. Kukla¹,
M. Vejsová¹, P. Česáková¹,
B. Friedecký²**

V posledních týdnech se u koronaviru SARS-CoV-2 nejvíce diskutují jeho nové varianty - britská, jihoafrická a brazilská varianta. Označení je často dáno místem, kde došlo k jejich objevu, resp. sekvenaci jako např. u britské varianty. V případě brazilské varianty bychom mohli také mluvit o japonské variantě. V krátkém sdělení se proto pokusíme o shrnutí podstatných informací o nových variantách viru, které vznikly na podkladě změn (deleci, mutací apod.) v genomu viru. Genetické změny se vyskytovaly již od počátku nového koronaviru a nadále se u viru budou vyskytovat, neboť umožňují virům se adaptovat na změny v prostředí (evoluční tlak). Jednou z významných mutací SARS-CoV-2 byla již v únoru 2020 mutace D614G, která dnes cirkuluje více než původní divoký typ SARS-CoV-2 (1). Předkládáme několik základních informací pracovníkům rutinních klinických laboratoří, které by mohly pomoci k orientaci v této dezinformacemi poznamenané době.

Britská varianta

Vzhledem k výraznému vzestupu výskytu infekce COVID-19 v jihovýchodní Anglii došlo na podzim minulého roku k rozsáhlejšímu pátrání po možných příčinách. Analýzy celogenomového sekvenování (WGS) SARS-CoV-2 objevily vysoké procento případů, které patřily do nového fylogenetického clusteru (1. report 14. 12. 2020). K 13. prosinci 2020 byla v Anglii nová varianta viru identifikována celkem u 1 108 osob, první případ byl ale zjištěn již 20. září 2020. Tato nová varianta je definována výskytem vícečetných mutací v S genu (resp. spike proteinu). Jedná se o následující změny - delece šesti nukleotidů v pozici 69 a 70, která vede ke ztrátě dvou aminokyselin, a delece v pozici 144. Mutace N501Y, A570D, již zmiňovaná mutace D614G, P681H, T716I, S982A a D1118H a dále mutace v jiných genomových oblastech. Velmi zajímavá, resp. nejzávažnější je jedna z přítomných mutací - N501Y, která se nachází v receptorové vazebné doméně (RBD, receptor binding domain) a způsobuje pevnější interakci díky větší vazebné

energii mezi spike proteinem viru a buněčným receptorem ACE2. Delece 69-70 může být spojována se zhoršenou protilátkovou odpovědí, ale pravděpodobně vede ke konformační změně spike proteinu. U mutace D614G existují také epidemiologické důkazy, že varianty s touto specifickou mutací se šíří rychleji než viry bez této mutace (2, 3, 4, 5).

Varianta má označení VUI 202012/01 (Variant Under Investigation, rok 2020, měsíc 12, varianta 01), clade 20B (20B/501Y.V1) nebo linie B.1.1.7. Tato varianta je signifikantně více transmisivní než předtím cirkulující varianta, což způsobuje zvýšení reprodukčního čísla R o přibližně 0,4 až 0,7, čímž dochází ke zvýšení tlaku na zdravotní péči. Zvýšená přenositelnost SARS-CoV-2 vede k vyššímu absolutnímu počtu nových infekcí, čímž se zvyšuje i počet infekcí probíhajících se závažným průběhem. Dopusud ale nejsou relevantní studie, zda tato varianta způsobuje horší průběh infekce. Postupně je britská varianta zjišťována i v dalších státech Evropy včetně České republiky (3). Zastoupení britské mutace na území naší republiky stoupá a jeho zastoupení v jednotlivých regionech není rovnoměrné.

Jihoafriická varianta

Dne 18. prosince 2020 oznámily vnitrostátní orgány v Jižní Africe detekci nové varianty SARS-CoV-2, která se rychle šíří ve třech provinciích Jižní Afriky. Jihoafrická republika pojmenovala tuto variantu 501Y.V2 kvůli mutaci N501Y, která je shodná jako v případě britské varianty. Fylogenetická analýza však ukázala, že se jedná o dvě různé varianty viru. Varianta 501.V2 v JAR rychle nahradila další cirkulující linie. Předběžné studie navíc naznačují, že je varianta spojena s vyšší virovou zátěží a zvýšením přenositelnosti. Kromě toho existují důkazy poukazující na potenciál snížené účinnosti některých vakcín COVID-19 s touto variantou. Kromě zmíněné mutace N501Y jsou pro jihoafrickou variantu typické následující dvě mutace - K417N a E484K. Mutace K417N způsobuje snížení odpudivé síly mezi ACE2 buněčným receptorem a RBD viru, čímž dochází k lepší vazbě ACE2 na povrch buněk a S proteinu viru. Mutace E484K vede k záměně kyseliny glutamové za lysin, který pak slouží jako úniková mutanta proti imunitnímu systému, protože interferuje se schopností sérových protilátek vázat se na tuto oblast RBD. Další mutací společnou pro všechny tři nové varianty je D614G. U tohoto clusteru se dále vyskytují následující mutace L18F, D80A, D215G, R246I, A701V a delece v pozici 242 až 244. V Evropě již bylo identifikováno několik stovek případů v mnoha zemích. Velký počet byl nedávno hlášen v Ra-

kousku, zejména v regionu Tyrolska (1, 4, 5, 6).

Tato varianta je označována jako linie B.1.351 (20C/501Y.V2). Jihoafrická varianta byla v rámci Evropy poprvé detekována 28. 12. 2020 a ve větší míře byla detekována v poslední době v Tyrolsku.

Brazílská varianta

V Brazílii se objevila další nová varianta s názvem P.1, která byla poprvé identifikována u cestujících z Brazílie, kteří byli testováni během rutinního screeningu na letišti Haneda v Japonsku počátkem ledna 2021. V té době zažívalo město Manaus v Amazonii vzestup případů infekce COVID-19 u dříve pozitivních lidí. Varianta P.1 má 17 jedinečných mutací, včetně tří v receptorové vazebné doméně spike proteinu (K417T, E484K a N501Y). Opět je u této varianty přítomná mutace D614G. Existují důkazy, které naznačují, že některé mutace ve variantě P.1 mohou ovlivnit schopnost protilátek (při přirozené infekci nebo očkování) rozpoznat a neutralizovat virus. Další změny vyskytující se u této varianty jsou L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, H655Y, T1027I a V1176F. V současné době je již tato varianta detekována i v Evropě (např. v Portugalsku) (5, 7).

Česká varianta

Od konce září, začátku října se v České republice objevuje nová varianta s delecí šesti nukleotidů, tedy se ztrátou dvou aminokyselin v pozici 69 a 70, v S genu spolu s mutací N439K.

Vliv variant viru na detekci RNA SARS-CoV-2

Většina komerčních testů založených na polymerázové řetězové reakci s reverzní transkripcí (RT-PCR) má více cílů pro detekci viru (různé kombinace možných genů – např. E genu, N genu, S genu, ORF 1ab genu nebo RdRP genu), čímž je vyloučeno selhání detekce RNA viru. Vzhledem k mutacím vyskytujících se u spike proteinu, resp. S genu, by tedy mohla být riziková diagnostika založená na S genu. Některé komerční kity i přes vyšetřování S genu, nemají detekci RNA SARS-CoV-2 ovlivněnu. Existují ale kity, kde detekce S genu je vlivem mutací u britské varianty různě ovlivněna. U jednoho z kitů vlivem mutace A570D dochází z posunu Ct hodnot oproti druhému genu o pět a více cyklů, díky tomuto posunu je možné tento kit využít pro screening britské varianty. Další výrobce uvádí plnou negativitu S genu. Vzhledem

k výskytu různých variant je tedy velmi podstatné pravidelné provádění in silico analýz jednotlivými výrobci kitů určených pro detekci RNA SARS-CoV-2, aby nedocházelo k selhání diagnostiky. Vliv jihoafrické a brazilské varianty na diagnostiku zatím nebyl pozorován.

Pro detekci nových variant se na trhu začínají také objevovat kity pro sekundární detekci variant u pozitivních vzorků. Některé umožňují rozlišení všech tří variant, jiné rozliší britskou variantu od zbylých dvou variant, které již není možné diferencovat. Tyto kity jsou založeny zejména na RT-PCR detekci různých mutací u jednotlivých variant. Nejspolehlivější detekcí jednotlivých variant je celogenomové sekvenování (WGS), které je ale časově náročné.

Literatura:

- Hou YJ, Chiba S, Halfmann P, et al. SARS-CoV-2 D614G Variant Exhibits Enhanced Replication ex vivo and Earlier Transmission in vivo. Preprint. bioRxiv. 2020;2020.09.28.317685. Published 2020 Sep 29. doi:10.1101/2020.09.28.317685
- European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid increase of a SARS-CoV-2 variant with multiple spike protein mutations observed in the United Kingdom - 20 December 2020. ECDC: Stockholm, 2020.
- Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. Cell 2021; 182(812-7).
- <https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov-2-variants/en/>
- European Centre for Disease Prevention and Control. SARS-CoV-2 - increased circulation of variants of concern and vaccine rollout in the EU/EEA, 14th update – 15 February 2021. ECDC: Stockholm; 2021.
- Wibmer CK, Ayres F, Hermanus T, et al. SARS-CoV-2-2501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. Preprint. bioRxiv. 2021;2021.01.18.427166. Published 2021 Jan 19. doi:10.1101/2021.01.18.427166
- Toovey OTR, Harvey KN, Bird PW, Tang JWW. Introduction of Brazilian SARS-CoV-2 484K. V2 related variants into the UK [published online ahead of print, 2021 Feb 3]. J Infect. 2021;S0163-4453(21)00047-5. doi:10.1016/j.jinf.2021.01.025