

MỘT SỐ BIẾN THỂ VIRUS SARS-COV-2 MỚI GÂY BỆNH COVID-19 VÀ PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN SARS-COV-2 TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG HUẾ

Trần Thừa Nguyên^{1*}, Mai Văn Tuấn¹, Mai Đình Điều¹

DOI: 10.38103/jcmhch.2022.75.15

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chủng vi-rút gây bệnh COVID-19 là một loại vi-rút Corona, một họ vi-rút lớn. Vi-rút Corona được đặt tên theo những chiếc gai giống như vương miện trên bề mặt vi-rút [1]. Các nhà khoa học theo dõi những thay đổi ở vi-rút này, bao gồm cả thay đổi trên các gai ở bề mặt của chúng. Những nghiên cứu này bao gồm phân tích di truyền của vi-rút, đang giúp các nhà khoa học hiểu rõ các thay đổi của vi-rút tác động như thế nào với cách lây lan và điều gì sẽ xảy ra với những người nhiễm biến thể đó [2 - 7].

Một số biến thể SARS-CoV-2 mới đã được mô tả là dễ lây truyền hơn, có thể thoát khỏi cả miễn dịch tự nhiên và miễn dịch do vắc xin và có thể ảnh hưởng đến tỷ lệ mắc và tử vong do COVID-19 [8 - 12].

II. MỘT SỐ BIẾN THỂ VIRUS SARS-COV-2 MỚI GÂY BỆNH COVID-19

2.1. Biến thể Nam Phi - B.1.351

Xuất xứ: Biến thể này còn được gọi là 501Y.V2, được tìm thấy ở Nam Phi vào đầu tháng 10 và được công bố vào tháng 12/2020. Bộ trưởng Y tế Nam Phi cho biết, chủng này dường như ảnh hưởng đến thanh niên nhiều hơn so với các chủng trước đó. Biến thể này có thể đã góp phần vào việc gia tăng các ca nhiễm và nhập viện trên khắp Nam Phi [13, 14].

Mức độ lây lan: Biến thể này đã được xác định ở hơn 20 quốc gia, trong đó có Canada, Australia và Israel. Vào ngày 28/1, Mỹ lần đầu tiên ghi nhận biến thể này ở hai người không có lịch sử du lịch Nam Phi [15 - 18].

Ngày 31/1, Việt Nam cũng xác nhận ca đầu tiên nhiễm biến thể này là chuyên gia nhập cảnh được cách ly, điều trị tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương cơ sở Đông Anh.

Biến thể này có một số điểm tương đồng với biến thể lần đầu tiên được xác định ở Anh và dường như cũng dễ lây lan hơn, nhưng không có bằng chứng cho thấy gây chết người nhiều hơn. Cựu giám đốc Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ Scott Gottlieb cho rằng biến thể này có thể kháng nhiều hơn với các liệu pháp kháng thể.

Tác dụng của vaccine: Vào tháng 1, chuyên gia hàng đầu của Mỹ về bệnh truyền nhiễm Anthony S. Fauci cho biết, biến thể này có thể làm vaccine giảm tác động, nhưng có thể vẫn sẽ hiệu quả. Moderna cho biết vaccine của họ bảo vệ chống lại biến thể ở Nam Phi nhưng lưu ý rằng, trong phòng thí nghiệm, các kháng thể tạo ra từ vaccine cũng kém hiệu quả hơn trong việc vô hiệu hóa đột biến này [19 - 21].

Pfizer và BioNTech đã phát hành nghiên cứu riêng nhưng chưa được đánh giá cho thấy vaccine của họ vô hiệu hóa biến thể này, mặc dù hiệu quả kém hơn một chút.

Vào ngày 29/1, Johnson & Johnson cho biết vaccine tiêm một mũi của họ có hiệu quả rõ rệt trong một cuộc thử nghiệm toàn cầu lớn, nhưng khả năng bảo vệ chống lại biến thể Nam Phi thì yếu hơn.

Tại Nam Phi, việc phân phối vaccine Oxford-AstraZeneca đã bị tạm dừng. Các quan chức y tế

¹Bệnh viện Trung ương Huế

- Ngày nhận bài (Received): 28/11/2021

- Ngày đăng bài (Accepted): 01/01/2022

- Người phản hồi (Corresponding author): Trần Thừa Nguyên

- Email: tranthuanguyen23@gmail.com; SĐT: 0903597695

cho biết vaccine không cung cấp đủ khả năng bảo vệ chống lại các trường hợp nhẹ và trung bình do biến thể mới gây ra.

2.2. Biến thể Anh - B.1.1.7

Xuất xứ: Vào tháng 9/2020, biến thể này lần đầu tiên được tìm thấy ở Anh, đặc biệt là ở London và hạt Kent gần đó, vì thế nó còn được gọi là biến thể “Kent”. Nó đã lan nhanh ở Anh, Đan Mạch và Ireland kể từ tháng 12/2020 [22 - 24].

Mức độ lây lan: Mới đây, Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) cho biết 86 quốc gia đã chứng kiến sự lây nhiễm từ biến thể của virus này.

Biến thể đầu tiên được xác định ở Anh dường như dễ lây truyền hơn so với chủng phổ biến hơn. Vào tháng 1, Thủ tướng Anh Boris Johnson lần đầu tiên cho rằng chủng này có thể gây chết người cao hơn so với các đột biến trước đó.

Vào đầu tháng 1, Trung tâm Kiểm soát và Phòng ngừa Dịch bệnh Mỹ đã đưa ra một dự báo mô hình dự báo biến thể này có thể trở thành chủng vi khuẩn thống trị ở nước này vào tháng 3. Một nghiên cứu gần đây cho thấy biến thể này đã lây lan nhanh chóng ở Mỹ vào đầu tháng 2.

Ngày 2/1, Việt Nam lần đầu tiên phát hiện biến thể này từ một phụ nữ trở về từ Anh. Biến thể B.1.1.7 cũng đang gây bệnh tại Hải Dương, Quảng Ninh trong đợt bùng phát lây nhiễm trong cộng đồng tại Việt Nam.

Tác dụng của vaccine: Giới khoa học có sự đồng thuận cho rằng vaccine sẽ vẫn có hiệu quả chống lại biến thể này bởi vì tiêm chủng đã kích thích một loạt các kháng thể trung hòa và các phản ứng khác của hệ miễn dịch. Các công ty công nghệ sinh học Pfizer và Moderna cho biết vaccine của họ dường như có tác dụng chống lại biến thể này.

Trong một nghiên cứu về người lớn tuổi, Giáo sư vi sinh lâm sàng Ravindra Gupta, Đại học Cambridge phát hiện ra rằng phản ứng miễn dịch do vaccine Pfizer kích hoạt ít hiệu quả hơn với biến thể ở Anh [25, 26].

2.3. Biến thể ở Rwanda - A.23.1

Xuất xứ: A.23.1 được phát hiện lần đầu tiên ở Rwanda, châu Phi vào khoảng cuối tuần thứ 3 của tháng 10/2020 [27, 28].

Mức độ lây lan: Ngoài Rwanda, biến thể A.23.1

chỉ mới được phát hiện ở một số ít nước khác trên thế giới bao gồm Mỹ, Các tiểu vương quốc Ả-rập thống nhất, Australia cũng như một số nước khác ở châu Âu trong đó có Anh và Đan Mạch. Tuy nhiên, chưa cho thấy những dấu hiệu diễn biến bất thường ở các quốc gia này.

Ngày 12/2, Việt Nam công bố các ca bệnh thuộc tổ boc xếp ở sân bay Tân Sơn Nhất đều thuộc chủng A.23.1.

Hiệu quả của vaccine: các nhà khoa học khuyến cáo cần tiếp tục theo dõi cẩn thận biến thể này, cũng như đánh giá nhanh hậu quả của những thay đổi đột biến về protein đối với hiệu quả của vaccine.

2.4. Đột biến Eek - E484K

Xuất xứ: Được gọi là E484K, hoặc “Eek”, đây là một đột biến xuất hiện trên một số biến thể. Đây không phải là một chủng mới; nó đã xuất hiện nhiều lần kể từ khi bắt đầu đại dịch, nhưng các chuyên gia vẫn lo ngại. Đột biến này thu hút sự chú ý của cộng đồng khi sự xuất hiện của nó bắt đầu trùng khớp với các biến thể khác dễ lây lan hơn [29, 30].

Mức độ lây lan: Eek đã được nhìn thấy trong các biến thể lần đầu tiên được phát hiện ở Anh, Nam Phi và Brazil. Nó cũng đã được phát hiện trong hơn 200 mẫu virus được giải mã trình tự ở Mỹ kể từ tháng 5/2020.

Đột biến Eek làm thay đổi protein đột biến của virus, vốn là mục tiêu của vaccine. Bản thân sự đột biến này không làm thay đổi đáng kể virus. Mối quan tâm với đột biến này là khi nó kết hợp với các biến thể khác, điều này có thể giúp virus tránh bị phát hiện và làm cho việc trung hòa bởi hệ thống miễn dịch của con người kém hiệu quả hơn.

Hiệu quả của vaccine: Dữ liệu thử nghiệm lâm sàng đã cho thấy vaccine kém hiệu quả hơn trong việc ngăn ngừa nhiễm trùng với các biến thể ở Nam Phi có đột biến. Nhưng vaccine vẫn làm giảm đáng kể nguy cơ mắc bệnh nặng hoặc tử vong.

2.5. Biến thể Brazil - P. 1

Xuất xứ: Vào tháng 7/2020, các nghiên cứu trình tự đã tìm thấy biến thể này ở Brazil, chủ yếu là ở Rio de Janeiro. Các nhà nghiên cứu ở Nhật Bản đã phát hiện ra nó ở những du khách đến từ Brazil vào tháng 1 [31].

Mức độ lây lan: Biến thể này đã được xác nhận ở Brazil, Peru, Đức, Hàn Quốc và Nhật Bản, cùng

một số quốc gia khác. Vào ngày 25/1, Mỹ đã xác nhận trường hợp đầu tiên nhiễm biến thể này là một người dân có tiền sử du lịch gần đây đến Brazil.

Biến thể có hơn một chục thay đổi, một số thay đổi được tìm thấy trên protein đột biến của virus, liên kết virus với tế bào. Do đó, các nhà nghiên cứu cho rằng chủng này có thể dễ lây lan hơn. Cũng có một số bằng chứng ban đầu cho thấy kháng thể có thể không nhận ra biến thể P. 1, điều này có thể dẫn đến tái nhiễm.

Hiệu quả của vaccine: Hiện tại không có bằng chứng chắc chắn nào cho thấy vaccine sẽ không hoạt động chống lại biến thể được xác định đầu tiên ở Brazil. Tuy nhiên, các nhà khoa học đã đưa ra khả năng rằng biến thể này có thể né tránh các kháng thể, điều này sẽ ảnh hưởng đến hiệu quả của vaccine hiện tại.

Moderna thông báo rằng họ sẽ phát triển một loại vaccine mới phù hợp với một biến thể tương tự trong trường hợp cần thiết.

2.6. Biến thể Đan Mạch - L452R

Xuất xứ: Biến thể này đã được phát hiện ở Đan Mạch vào tháng 3/2020 [32].

Mức độ lây lan: Tại Mỹ, quốc gia có nhiều ca mắc Covid-19 nhất thế giới, biến thể này đã và đang lan rộng ở Bắc California và có liên quan đến sự bùng phát tại các viện dưỡng lão, nhà tù và bệnh viện ở khu vực San Jose. Nó cũng đã được xác nhận ở Nam California và hơn một chục tiểu bang khác [33].

Vẫn chưa rõ liệu chủng virus SARS-CoV-2 này có khả năng lây truyền hay gây chết người nhiều hơn hay không.

Hiệu quả của vaccine: Một số nhà khoa học cho rằng biến thể này có thể kháng vaccine cao hơn vì đột biến nằm trong protein gai, cho phép virus bám vào tế bào. Nhưng các nhà khoa học cũng nói rằng cần phải nghiên cứu thêm trước khi họ có thể đưa ra kết luận.

2.7. Biến thể đầu tiên - D614G

Xuất xứ: Biến thể này được các nhà khoa học gọi đơn giản là “G”, được phát hiện ở Trung Quốc vào tháng 1/2020 [34 - 36].

Mức độ lây lan: Đột biến “G” đã trở nên phổ biến trên khắp thế giới. Đến tháng 7/2020, khoảng 70% trong số 50.000 bộ gen của virus SARS-CoV-2 được các nhà nghiên cứu trên toàn thế giới tải lên cơ sở dữ liệu dùng chung mang biến thể này.

Một số nhà khoa học cho rằng biến thể này có khả năng lây truyền cao hơn đáng kể so với chủng virus ban đầu. Đó là bởi vì biến thể này có số lượng gai nhiều hơn bốn đến năm lần trên bề mặt của nó. Những chiếc gai này cho phép virus bám vào và lây nhiễm các tế bào. Nhưng điều này vẫn đang tranh cãi.

Hiệu quả của vaccine: Biến thể G là chủng vượt trội khi diễn ra các thử nghiệm vaccine vào năm 2020. Các vaccine Pfizer và Moderna cho thấy hiệu quả 95% trong các thử nghiệm.

III. CÁC XÉT NGHIỆM ĐÃ THỰC HIỆN CHẨN ĐOÁN SARS-COV-2 TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG HUẾ

3.1. Bộ sinh phẩm chẩn đoán SARS COV-2 của công ty Việt Á

Bộ sinh phẩm LightPower iVASARS-CoV-2 1stRT-r PCR Kit là kit định tính SARS-CoV-2 virus trong mẫu bệnh phẩm đường hô hấp trên (hỗn hợp dịch mũi họng, dịch súc họng), đường hô hấp dưới (đờm, dịch phế nang, dịch nội khí quản, dịch màng phổi...) bằng kỹ thuật real-time RT-PCR sử dụng TaqMan probe.

Nguyên lý: Bộ LightPoweriVASARS-CoV-2r PCR Kit được thiết kế trên vùng gene mục tiêu N gene, RNA của SARS-CoV-2 được thu nhận từ mẫu sau đó được nhân bản bằng kỹ thuật Real-time RT-PCR, không cần thực hiện phản ứng chuyển đổi cDNA, với TaqMan probe trên kênh màu FAM đặc hiệu cho SARS-CoV-2 và TEXASRED cho SARS-like coronavirus. Chứng nội sinh (HEX) cho phép kiểm soát toàn bộ quá trình từ tách chiết đến thu nhận kết quả.

3.2. Bộ sinh phẩm chẩn đoán SARS COV-2 của công ty Thái Dương

SARS-CoV-2 One-Step RT-PCR Covid-19 Kit Thai Duong Multiplex-3 target genes hoạt động dựa trên hai bước chính: (1) Xử lý mẫu bệnh phẩm để thu được RNA của SARS-CoV-2; (2) Chuyển RNA thành cDNA đồng thời nhân bản cDNA bằng cặp mồi đặc hiệu cho SARS-CoV-2 và thu nhận tín hiệu huỳnh quang theo thời gian thực. Hỗn hợp phản ứng RT-PCR chứa các cặp mồi và mẫu dò được thiết kế trong vùng N gene của bộ gene SARS-CoV-2. Các cặp mồi chịu trách nhiệm nhân bản các trình

tự đặc hiệu cho SARS-CoV-2. Sản phẩm nhân bản được phát hiện bởi tín hiệu huỳnh quang phát ra từ sự phân cắt mẫu dò TaqMan đặc hiệu cho SARS-CoV-2. Hỗn hợp phản ứng RT-PCR còn chứa một cặp mồi và mẫu dò TaqMan hoạt động như một chứng nội (Internal Control) giúp kiểm soát quá trình tách chiết và hoạt động phản ứng PCR.

3.3. Bộ sinh phẩm XPERT XPRESS SARS-COV-2 test của công ty Cepheid (GENE XPERT SYSTEM)

Là xét nghiệm sàng lọc có ưu điểm khép kín trên hệ thống máy tự động, thời gian thực hiện nhanh hơn các xét nghiệm realtime RT-PCR. Hệ thống máy tự động có chức năng tách chiết mẫu, khuếch đại acid nucleic và phát hiện trình tự đích đồng thời. Xpert Xpress SARS-CoV-2 là kit chẩn đoán in vitro trên hệ thống GeneXpert giúp chẩn đoán SARS-CoV-2 dựa trên phản ứng rRT-PCR. Khi có kết quả dương tính, khẳng định lại kết quả sử dụng sinh phẩm rRT-PCR được Bộ Y tế đã công nhận cho Phòng xét nghiệm khẳng định SARS-CoV-2.

Nguyên lý

Xét nghiệm Xpert Xpress SARS-CoV-2 dựa trên nguyên lý kỹ thuật Reverse Transcribed - Realtime Polymearase Chain Reaction (Phản ứng phiên mã ngược khuếch đại thời gian thực) - rRT-PCR trên hệ thống tự động GenXpert. Các đoạn gene đích phát hiện trên gen E (Envelope) đặc hiệu cho phân loài Sabercovirus, gen N2 (Nucleocapsid) phát hiện đặc hiệu cho vi rút SARS-CoV-2

Đồng thời, hệ thống này có hai đối chứng nội tại bao gồm: SPC (đối chứng quá trình xử lý mẫu) và

PCC (đối chứng kiểm tra mẫu dò) để làm tăng độ tin cậy của kết quả.

3.4. Bộ sinh phẩm khẳng định theo khuyến cáo của WHO

Một trong các tiêu chuẩn Bộ Y tế ban hành qui định cho PXN khẳng định SARS CoV-2 là phải thực hiện được xét nghiệm khẳng định theo khuyến cáo của Tổ chức y tế thế giới (WHO). Xét nghiệm được xây dựng dựa trên quy trình của Charite - Berline (Đức) áp dụng trên hệ thống realtime PCR mở (áp dụng được cho sinh phẩm tách chiết và PCR nhiều loại khác nhau). Quy trình sử dụng gen đích là gen E (đặc trưng cho Corona virus nói chung) và RdRp (đặc trưng cho SARS CoV-2). Theo QĐ/4383 ngày 28/05/2021 của BYT đã ban hành danh sách sinh phẩm được cấp phép sử dụng cho xét nghiệm khẳng định. Thực tế đây là quy trình của Tib-Mobiol (Đức) với nhiều lựa chọn cho các sinh phẩm tách chiết và sinh phẩm Realtime PCR (theo danh sách sinh phẩm được phép sử dụng được BYT công bố) được áp dụng phù hợp với tình trạng của mỗi PXN được phép khẳng định SARS CoV-2.

Ban đầu khi mới áp dụng quy trình này (02/2020) WHO đưa ra khuyến cáo thực hiện trên cả 02 gen E và RdRp, trong đó gen E (sàng lọc) và gen RdRp (khẳng định). Nghĩa là những mẫu dương tính phải được thực hiện sàng lọc bằng gen E, khi cho kết quả gen E (+) sẽ tiếp tục thực hiện khẳng định với gen RdRp. Mẫu bệnh phẩm được khẳng định dương tính khi cả gen E và gen RdRp đều được xác định dương tính bằng kỹ thuật realtime RT-PCR.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Farrag MA, Amer HM, Bhat R, Hamed ME, Aziz IM, Mubarak A, et al. SARS-CoV-2: An Overview of Virus Genetics, Transmission, and Immunopathogenesis. Int J Environ Res Public Health. 2021. 18.
2. Harder T, Kulper - Schiek W, Reda S, Treskova-Schwarzbach M, Koch J, Vygen-Bonnet S, et al. Effectiveness of COVID-19 vaccines against SARS-CoV-2 infection with the Delta (B.1.617.2) variant: second interim results of a living systematic review and meta-analysis, 1 January to 25 August 2021. Euro Surveill. 2021. 26.
3. Kanamori H. An overview of research on air and environmental contamination with severe acute respiratory coronavirus virus 2 (SARS-CoV-2) in healthcare settings. Infect Control Hosp Epidemiol. 2020: 1-4.
4. Kim Y, Kim EJ, Lee SW, Kwon D. Review of the early reports of the epidemiological

- characteristics of the B.1.1.7 variant of SARS-CoV-2 and its spread worldwide. *Osong Public Health Res Perspect*. 2021. 12: 139-148.
5. Kumar M, Kumari N, Thakur N, Bhatia SK, Saratale GD, Ghodake G, et al. A Comprehensive Overview on the Production of Vaccines in Plant-Based Expression Systems and the Scope of Plant Biotechnology to Combat against SARS-CoV-2 Virus Pandemics. *Plants (Basel)*. 2021. 10.
 6. Li P, Zhang J, Lin Q, Kong J, Fang X. Rapid differential diagnosis of the B.1.617.2 (delta) variant of SARS-CoV-2 using an automated Cas12a-microfluidic system. *Chem Commun (Camb)*. 2021. 57: 12270-12272.
 7. Mutnal MB, Johnson S, Mohamed N, Abdelgader R, Morales L, Volz M, et al. Surveillance genome sequencing reveals multiple SARS-CoV-2 variants circulating in central Texas, USA, with a predominance of delta variant and review of vaccine breakthrough cases. *J Med Virol*. 2021.
 8. Alanagreh L, Ababneh M, Al-Shudifat AE, Ajlouny M, Abu - Shaikh H, Alzoughool F, et al. New SARS-CoV-2 Variant from Jordan. *Microbiol Resour Announc*. 2021. 10: e0053221.
 9. Fillatre P, Dufour MJ, Behillil S, Vatan R, Reusse P, Gabellec A, et al. A new SARS-CoV-2 variant with high lethality poorly detected by RT-PCR on nasopharyngeal samples: an observational study. *Clin Microbiol Infect*. 2021.
 10. Paniri A, Hosseini MM, Akhavan-Niaki H. Impact of new UK (B.1.1.7) SARS-Cov-2 variant on interacting with ACE2 and host immune response. *Gene Rep*. 2021. 25: 101342.
 11. Pouwels KB, Pritchard E, Matthews PC, Stoesser N, Eyre DW, Vihta KD, et al. Effect of Delta variant on viral burden and vaccine effectiveness against new SARS-CoV-2 infections in the UK. *Nat Med*. 2021.
 12. Zalona Fernandes HM, Miranda KR, da Silva Dias RC, Alviano DS, Duarte RS, da Silva Carvalho AC. The challenges of education in a continental country in the face of new severe acute respiratory coronavirus virus 2 (SARS-CoV-2) variant circulation. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2021: 1-3.
 13. Cheng C, Wang L, Lyu Z, Peng B, Li Y, Kong D, et al. Four COVID-19 Cases of New Variant B.1.351 First Emerging in South Africa in Chinese Passengers on Same Flight - Shenzhen, China, January 2021. *China CDC Wkly*. 2021. 3: 175-177.
 14. Linka K, Peirlinck M, Schafer A, Tikenogullari OZ, Goriely A, Kuhl E. Effects of B.1.1.7 and B.1.351 on COVID-19 Dynamics: A Campus Reopening Study. *Arch Comput Methods Eng*. 2021: 1-12.
 15. Abe H, Ushijima Y, Bikangui R, Zoa - Assoumou S, Ondo GN, Manouana GP, et al. Unrecognized introduction of SARS-CoV-2 variants of concern to Central Africa: Import and local transmission of B.1.1.7 in Gabon in the very early stage of the variant spread to the African continent. *J Med Virol*. 2021. 93: 6054-6058.
 16. Jaspe RC, Loureiro CL, Sulbaran Y, Moros ZC, D'Angelo P, Rodriguez L, et al. Introduction and rapid dissemination of SARS-CoV-2 Gamma Variant of Concern in Venezuela. *Infect Genet Evol*. 2021. 96: 105147.
 17. Novazzi F, Genoni A, Spezia PG, Focosi D, Zago C, Colombo A, et al. Introduction of SARS-CoV-2 variant of concern 20h/501Y.V2 (B.1.351) from Malawi to Italy. *Emerg Microbes Infect*. 2021. 10: 710-712.
 18. Sallam M, Mahafzah A. Molecular Analysis of SARS-CoV-2 Genetic Lineages in Jordan: Tracking the Introduction and Spread of COVID-19 UK Variant of Concern at a Country Level. *Pathogens*. 2021. 10.
 19. Eyal N, Caplan A, Plotkin S. COVID vaccine efficacy against the B.1.351 ("South African") variant - The urgent need to lay the groundwork for possible future challenge studies. *Hum Vaccin Immunother*. 2021: 1-2.
 20. Madhi SA, Baillie V, Cutland CL, Voysey M, Koen AL, Fairlie L, et al. Efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 Covid-19 Vaccine against the B.1.351 Variant. *N Engl J Med*. 2021. 384: 1885-1898.

21. Shinde V, Bhikha S, Hoosain Z, Archary M, Bhorat Q, Fairlie L, et al. Efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 Vaccine against the B.1.351 Variant. *N Engl J Med*. 2021. 384: 1899-1909.
22. Armstrong PM, Andreadis TG. A new genetic variant of La Crosse virus (bunyaviridae) isolated from New England. *Am J Trop Med Hyg*. 2006. 75: 491-6.
23. Grint DJ, Wing K, Houlihan C, Gibbs HP, Evans SJW, Williamson E, et al. Severity of SARS-CoV-2 alpha variant (B.1.1.7) in England. *Clin Infect Dis*. 2021.
24. Williams SV, Vusirikala A, Ladhani SN, Fernandez Ruiz De Olano E, Iyanger N, Aiano F, et al. An outbreak caused by the SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) variant in a care home after partial vaccination with a single dose of the COVID-19 vaccine Vaxzevria, London, England, April 2021. *Euro Surveill*. 2021. 26.
25. Collier DA, De Marco A, Ferreira I, Meng B, Datir R, Walls AC, et al. SARS-CoV-2 B.1.1.7 sensitivity to mRNA vaccine-elicited, convalescent and monoclonal antibodies. *medRxiv*. 2021.
26. Collier DA, De Marco A, Ferreira I, Meng B, Datir RP, Walls AC, et al. Sensitivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 to mRNA vaccine-elicited antibodies. *Nature*. 2021. 593: 136-141.
27. Bugembe DL, Phan MVT, Ssewanyana I, Semanda P, Nansumba H, Dhaala B, et al. Emergence and spread of a SARS-CoV-2 lineage A variant (A.23.1) with altered spike protein in Uganda. *Nat Microbiol*. 2021. 6: 1094-1101.
28. Dudas G, Hong SL, Potter BI, Calvignac-Spencer S, Niatou-Singa FS, Tombolomako TB, et al. Emergence and spread of SARS-CoV-2 lineage B.1.620 with variant of concern-like mutations and deletions. *Nat Commun*. 2021. 12: 5769.
29. Baj A, Novazzi F, Pasciuta R, Genoni A, Ferrante FD, Valli M, et al. Breakthrough Infections of E484K-Harboring SARS-CoV-2 Delta Variant, Lombardy, Italy. *Emerg Infect Dis*. 2021. 27: 3180-3182.
30. Jensen B, Luebke N, Feldt T, Keitel V, Brandenburger T, Kindgen-Milles D, et al. Emergence of the E484K mutation in SARS-CoV-2-infected immunocompromised patients treated with bamlanivimab in Germany. *Lancet Reg Health Eur*. 2021. 8: 100164.
31. Faria NR, Mellan TA, Whittaker C, Claro IM, Candido DDS, Mishra S, et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*. 2021. 372: 815-821.
32. Tchesnokova V, Kulasekara H, Larson L, Bowers V, Rechkina E, Kisiela D, et al. Acquisition of the L452R Mutation in the ACE2-Binding Interface of Spike Protein Triggers Recent Massive Expansion of SARS-CoV-2 Variants. *J Clin Microbiol*. 2021. 59: e0092121.
33. Motozono C, Toyoda M, Zahradnik J, Saito A, Nasser H, Tan TS, et al. SARS-CoV-2 spike L452R variant evades cellular immunity and increases infectivity. *Cell Host Microbe*. 2021. 29: 1124-1136 e11.
34. Gazali FM, Nuhamunada M, Nabilla R, Supriyati E, Hakim MS, Arguni E, et al. Detection of SARS-CoV-2 spike protein D614G mutation by qPCR-HRM analysis. *Heliyon*. 2021. 7: e07936.
35. McAuley AJ, Kuiper MJ, Durr PA, Bruce MP, Barr J, Todd S, et al. Experimental and in silico evidence suggests vaccines are unlikely to be affected by D614G mutation in SARS-CoV-2 spike protein. *NPJ Vaccines*. 2020. 5: 96.
36. Yang TJ, Yu PY, Chang YC, Hsu SD. D614G mutation in the SARS-CoV-2 spike protein enhances viral fitness by desensitizing it to temperature - dependent denaturation. *J Biol Chem*. 2021. 297: 101238.