

お客様各位

2023年 3月 吉日
シスメックス株式会社

弊社 PCR 試薬における SARS-CoV-2 変異株の影響について

拝啓 時下ますますご清栄のことと存じます。

平素は弊社製品につきまして、格別のお引立てを賜り誠にありがとうございます。

この度、弊社 PCR 試薬「SARS コロナウイルス核酸キット DetectAmp™ SARS-CoV-2 RT-PCR キット（体外診断用医薬品製造販売承認番号：30300EZX00036000）」（以下、本試薬）における SARS-CoV-2 変異株の影響を検証しましたので、下記の通りご報告申し上げます。

記

1. 本試薬の性能に影響を及ぼす可能性がある変異の調査対象期間（3 か月）における登録頻度

【検証方法】

本試薬のプライマー及びプローブ認識部位^{※1}に変異が生じた SARS-CoV-2 変異株のうち、本試薬の性能に影響を及ぼす可能性がある^{※2}変異 11 種について、2022 年 11 月 25 日～2023 年 2 月 24 日の 3 か月間における GISAID⁽¹⁾（Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data : SARS-CoV-2 変異株のゲノムデータベース）での登録頻度（グローバルおよび日本国内）を調査しました。

なお、判定基準としては、Tukey の定義^{※3}を用いて判定しました。

※1 本試薬のプライマー及びプローブ認識部位：国立感染症研究所の「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1」⁽²⁾に記載された N セット No.2（N2 セット）と同一配列です。

※2 本試薬のプライマー及びプローブ認識部位に生じた変異を含む人工合成 DNA（20、200、2,000、20,000 copies/test）を用いて行った検証の結果、以下の条件のいずれかに当てはまった変異の種類を「本試薬の性能に影響を及ぼす可能性のある」としました。

- ① Ct 値が野生株よりも 5 サイクル以上遅れる。
- ② 蛍光強度が著しく低い。
- ③ 核酸増幅が認められない。

※3 Tukey の定義：登録頻度が「第 3 四分位点+1.5×四分位範囲」を超える変異を、登録頻度が高いと判定します。

【結果】

グローバルおよび日本国内において、調査対象の 11 種のうち登録頻度の高い変異は認められませんでした。調査結果の詳細は表 1 をご覧ください。

表 1. 本試薬の性能に影響を及ぼす可能性がある変異 11 種の
2022 年 11 月 25 日～2023 年 2 月 24 日におけるデータベースへの登録頻度の調査結果一覧

社内サンプルID	変異箇所	配列	野生株に対する Ct値の遅れ	調査対象期間_全登録		調査対象期間_日本		備考
				登録数	頻度	登録数	頻度	
野生株 Forward	-	AAATTTTGGGGACCAGGAAC	-	-	-	-	-	-
野生株 Reverse	-	GTTGACCTACACAGGTGCCA	-	-	-	-	-	-
野生株 Probe	-	ATGTCGCGCATTGGCATGGA	-	-	-	-	-	-
変異 24	F Primer	AAATTTTGGGGAT C ACGAAC	11.1	0	0%	0	0%	2021年10月発行分にて報告。 10サイクル以上の遅延があり、 20 copies/testにて検出なし。
変異 50	Probe	ATGTCGCGCATT C GCATGGA	5.3	0	0%	0	0%	2021年12月発行分にて報告。 増幅曲線の変化あり。5サイクル以上の遅延あり。
変異 51	Probe	ATGTCG T GCATTGGCATGGA	5.4	0	0%	0	0%	2021年12月発行分にて報告。 増幅曲線の変化あり。5サイクル以上の遅延あり。
変異 54	Probe	ATGTCTCGCATTGG T ATGGA	N.D.	0	0%	0	0%	2021年12月発行分にて報告。 増幅なし。
変異 56	Probe	AT A TCGCGCATTGG T ATGGA	N.D.	0	0%	0	0%	2021年12月発行分にて報告。 増幅なし。
変異 59	Probe	ATGTCG A TATTGGCATGGA	N.D.	0	0%	0	0%	2021年12月発行分にて報告。 増幅なし。
変異 61	Probe	ATGTCGCGCATTG A TATGGA	N.D.	0	0%	0	0%	2021年12月発行分にて報告。 増幅なし。
変異 68	F Primer	AAATTTTGGGGACCAGGA A G	8.4	0	0%	0	0%	2022年7月発行分にて報告。 増幅曲線の変化あり。8サイクル以上の遅延があり、 20 copies/testにて検出なし。
変異 70	Probe	ATGTCG A GCATTGGCATGGA	N.D.	0	0%	0	0%	2022年7月発行分にて報告。 増幅なし。
変異 76	Probe	ATGTCGCG A ATTGGCATGGA	N.D.	5	0.001%	0	0%	2022年7月発行分にて報告。 増幅なし。
変異 77	Probe	ATGTCGCG G ATTGGCATGGA	N.D.	0	0%	0	0%	2022年7月発行分にて報告。 増幅なし。

注 1) GISAID への登録数は国や地域毎の解析レベルの差を反映するため、各変異の登録数はそのまま世界における存在比率を示すものではないことに留意が必要です。

注 2) 登録数が「0 件」の場合は、調査期間内に GISAID への追加登録がなかったことを意味します。

2. VOI、VOC 及び Omicron subvariants under monitoring 株に対する検証

【検証方法】

WHO にて Variants of Interest (VOI ; 注目すべき変異株)、Variants of Concern (VOC ; 懸念される変異株) 及び Omicron subvariants under monitoring (監視下にあるオミクロン株の亜系統) に設定されている変異株について、新規変異株の有無または既報の変異株における新たな変異の有無と本試薬への影響を検証しました。

検証は、outbreak.info⁽³⁾を用いて、公開されている各変異株の主要な変異がプライマー及びプローブ認

識部位に該当するか否かを確認しました。

【結果】

いずれの変異株も主要な変異部分が本試薬のプライマー及びプローブ認識部位と合致しないため、理論的に影響はないと考えます^{※4}。

検証結果の一覧を表 2 に示します。

※4 本検証は、公的データベースでの検索により実施しており、臨床検体を使用した検証ではございません。

表 2. VOI、VOC 及び Omicron subvariants under monitoring 株の
本試薬への影響に対する検証結果

	変異株	Pango 系統名	プライマー、プローブ 認識部位の変異	検証結果
新規	オミクロン	B.1.1.529/CH.1.1	なし	影響なし
		B.1.1.529/XBF	なし	影響なし
既報	アルファ*	B.1.1.7	なし	影響なし
	ベータ*	B.1.351	なし	影響なし
	ガンマ*	B.1.1.28.1	なし	影響なし
		B.1.1.28.2	なし	影響なし
	デルタ*	B.1.617.2	なし	影響なし
	オミクロン	B.1.1.529	なし	影響なし
		B.1.1.529/BA.1	なし	影響なし
		B.1.1.529/BA.2	なし	影響なし
		B.1.1.529/BA.2.75	なし	影響なし
		B.1.1.529/BA.2.3.20	なし	影響なし
		B.1.1.529/BA.4.6	なし	影響なし
		B.1.1.529/BA.5	なし	影響なし
		B.1.1.529/BF.5	なし	影響なし
		B.1.1.529/BF.7	なし	影響なし
		B.1.1.529/BJ.1	なし	影響なし
		B.1.1.529/BQ.1	なし	影響なし
B.1.1.529/BQ.1.1		なし	影響なし	
B.1.1.529/XBB	なし	影響なし		
B.1.1.529/XBB.1.5	なし	影響なし		

*現在は、WHO にて Previously circulating VOC/VOI (かつて流行していた VOC/VOI 株) として設定されています。

● **参考資料**

(1) ゲノムデータベース GISAID

(<https://www.gisaid.org/>)

(2) 国立感染症研究所ウェブサイト

「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver. 2.9.1」

(<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200319.pdf>)

(3) outbreak.info : SARS-CoV-2 (hCoV-19) Mutation Reports

(<https://outbreak.info/situation-reports>)

outbreak.info は COVID-19 と SARS-CoV-2 の疫学データ、ゲノムデータ、公表された研究、その他のリソースを統合したオープンソースデータベースです。「SARS-CoV-2 (hCoV-19) Mutation Reports」では、各変異株について、GISAID に登録された同系統の変異株の 75% で共通して生じる変異を「主要な変異」と定義して情報をまとめています。

ご不明な点がございましたら、弊社営業担当者までお問い合わせください。

今後とも弊社製品をご愛顧賜りますよう、何卒よろしくお願い申し上げます。

敬具