

cobas z 480 の 2nd Derivative Max 解析のピットホール

◎秋山 友里¹⁾、湯石 晃一¹⁾、上杉 洸太¹⁾、赤羽 珠実¹⁾、堀内 裕次¹⁾、伊藤 裕佳²⁾、小飼 貴彦²⁾
獨協医科大学病院¹⁾、獨協医科大学 感染制御・臨床検査医学²⁾

【はじめに】当検査センターでの SARS-CoV-2 リアルタイム PCR 検査は、国立感染症研究所の病原体検査マニュアル 2019-nCoV に従った方法で実施している。測定機器は cobas z 480 と Quant Studio 5 DX を使用し、External Standard Curve 法により定量値を報告している。

また、cobas z 480 は 2nd Derivative Max による結果解析を行っている。今回我々は、cobas z 480 の 2nd Derivative Max による解析後、改めて Fit Points による再解析を実施したところ、それらの結果で乖離を経験したので報告する。

【方法】測定機器は cobas z 480(Roche Diagnostics)と Quant Studio 5 DX(Thermo Fisher Scientific)を使用した。試薬は Ag-Path-ID One-step RT-PCR Kit(Thermo Fisher Scientific)と感染研法に準じた Primer Probe セット(Thermo Fisher Scientific)を使用し、検体は鼻咽腔拭い液を用いた。

【症例】26 歳男性。2021 年 9 月に術前の SARS-CoV-2 リアルタイム PCR 検査を cobas z 480 で実施した。

2nd Derivative Max の解析結果は、N2 領域で CP 値 34.36、定量値 4.18×10^1 コピー/5 μ L であった。

しかし、増幅曲線が PCR サイクルの後半で直線的な反応曲線となっていたため、今回の CP 値 34.36 に疑問を感じ、Fit Points による再解析を実施した。その結果 CP 値 35.60、定量値 5.00×10^0 コピー/5 μ L 未満となり、さらに測定機器を変えて Quant Studio 5 DX での再検査を実施したところ、Ct 値 36.955、定量値 5.00×10^0 コピー/5 μ L 未満であり、Fit Points と同様の結果となった。

【まとめ】Fit Points では Threshold Line を任意の位置に設定して解析するため測定者間での誤差が大きくなる。このことから再現性の高い解析方法として 2nd Derivative Max を選択してきた。しかし、今回 2nd Derivative Max と Fit Points の解析結果で乖離する症例を経験した。今回の経験により cobas z 480 を用いたリアルタイム PCR の解析について、PCR サイクルの後半で直線的な反応曲線を認めた場合、2nd Derivative Max だけではなく Fit Points による再解析を行う必要がある。また、解析結果に乖離を認めた場合には適切な解析方法を選択することが重要であると考えた。連絡先—0282-86-1111(内線 3972)