



מרכז המידע והידע הלאומי למערכת הבריאות
מסמך מספר 17

שיטת ddPCR ככלי לסיוע בגילוי מוקדם של הדבקה בנגיף COVID-19 – הצבעה ראשונית

1. במסגרת טכנולוגיית **Droplet Digital PCR** (להלן ddPCR) מחולקת דגימת ה-DNA שמעוניינים לבדוק לאלפי עד עשרות אלפי ננו-טיפות, בשיטה המבוססת על תחליב (אמולסיה) של שמן ומים באמצעות ציוד ייעודי. כל טיפה כזאת תשמש לביצוע ריאקציית PCR נפרדת.

2. לאחר מכן, **ההגברה¹ מתבצעת בתהליך PCR סטנדרטי עד עשרות אלפי פעמים במקביל, קרי בכל אחת מננו-טיפות, והתוצאה נבדקת במכשיר ייעודי המחפש במהירות את הימצאות גן המטרה המבוקש בכל אחת ואחת מהטיפות². כל זאת, בניגוד לשיטת RT-PCR הסטנדרטית הנמצאת כיום בשימוש, שביכולתה לבצע את תהליך ההגברה פעם בודדת בלבד לכל בדיקה במבחנה.**

3. מחקר קליני ראשוני שפורסם (סוף מרס) בסין על נשאי קורונה מאומתים מצביע על **דיוק גבוה יותר של שיטה זו בגילוי ריכוז נמוך של מקטעי DNA של הנגיף בדגימה בודדת** מאשר בשיטת שיטת ה-RT-PCR הסטנדרטית.

4. במסגרת המחקר, **מי שזוהה כחיובי בשיטת RT-PCR הסטנדרטית זוהה גם כחיובי בשיטת ddPCR**. מבין אלו שזוהו כשליליים בשיטת ה-RT-PCR הסטנדרטית, רובם זוהו גם כשליליים בשיטת ddPCR. **עם זאת, מעטים מתוכם זוהו כחיוביים בשיטת ddPCR**. מסקנת המחקר היא ששיטת ddPCR טובה יותר בזיהוי ריכוזי RNA נמוכים של נגיף הקורונה מאשר השיטה הסטנדרטית. לאור מסקנות אלה, **מדובר להבנתנו בשיטה בעלת רגישות³ פוטנציאלית גבוהה יותר משיטת RT-PCR**. משמעות הדבר היא **שנוכל לזהות חולים בשלבים**

¹ תהליך השכפול של מקטעי ה-DNA שמתבצע במסגרת ה-PCR

² במקרה זה נעשה שימוש ב-cDNA, כלומר מקטע DNA שהושלם על בסיס מקטע ה-RNA של נגיף הקורונה. שיטה זו מאפשרת לכמת את המטען הגנטי בדגימה נתונה שבדרך כלל החומר הגנטי הקיים בדגימה.

³ רגישות מוגדרת כאחוז ההצלחה בזיהוי דגימות חיוביות.

מוקדמים יותר, במטרה להפחית את מספר הבדיקות הנעשות כיום בארץ לאימות החולים.

5. להבנתנו, נוסף על הסיפור ברגישות הבדיקה, שיטה זו עשויה לסייע **בגילוי ריכוז ה-DNA המתבקש** בדגימה שנלקחה ובכך להשליך על ההתקדמות של התפשטות הנגיף בגוף האדם ושלבי המחלה. זאת, בדומה לשיטת RT-qPCR.

6. משיח ראשוני עם חברת Centarix הישראלית (ירושלים), העוסקת בעיכוב הזדקנות, עולה כי היא **ביצעה ניסוי ראשוני לזיהוי נגיף הקורונה באמצעות ערכת ddPCR שרכשה**. מתוצאות הניסוי הראשוני עולה כי ביכולת השיטה **לתת תשובה חיובית בנוגע להימצאות של ריכוז מקטעי RNA נמוך לפחות פי עשרה מהרף התחתון של בדיקת RT-PCR** סטנדרטית.

7. חברת Bio-Rad (קליפורניה, ארה"ב; נציגות בישראל), המתמחה בייצור מוצרים למחקרים ביולוגיים וקליניים, מובילה בתחום ה-ddPCR. החברה הכריזה (19 במרס) שמחקרים קליניים שביצעה בסין על מכשיר שפיתחה בשם QX200 Droplet Digital PCR הביאו לתוצאות מדויקות במיוחד בזיהוי COVID-19 אצל חולים. יצוין כי **ביכולתה של ערכה אחת מהסוג שהוזכר לעיל לבצע בפעם אחת את התהליך על 96 דגימות**, וכי נדרש מכשיר ה-PCR הסטנדרטי נוסף על הציוד המחלק את הנחל לטיפות ומכשיר המבצע את האנליזה לטיפות. החברה עודנה ממתינה לקבלת אישור EUA מה-FDA.

משמעויות

8. להערכתנו, לאור רגישותה המוגברת, שימוש בבדיקת ddPCR עשוי להביא **לצמצום התוצאות השליליות השגויות (false negative) בבדיקת הימצאות נגיף הקורונה ביחס לבדיקת RT-PCR**. חרף העובדה כי בדיקת RT-PCR שבה נעשה שימוש כיום היא בעלת רגישות גבוהה, עדיין דרוש פרק זמן מרגע ההדבקה עד ביצוע אפקטיבי של אבחון, מאחר שדרוש לנגיף זמן להתרבות בגוף בכמות מספקת לגילוי. **בשיטת ddPCR ניתן יהיה לזהות הדבקה של נבדק בשלבים מוקדמים יותר, שבהם ריכוז הנגיף בגוף עודנו נמוך**.

9. בראייתנו, בהינתן בדיקות תואמות ואישורים רשמיים לשימוש בשיטה, ניתן יהיה לבדוק באמצעותה בשלב ראשוני כל אדם החיוני למאבק בקורונה או לתפקוד מדינת ישראל. זאת, אף שבדיקת RT-PCR סטנדרטית היא בעלת רגישות גבוהה מאוד (יכולת לזהות את הנגיף ביותר מ-95% מהבדיקות) חולה מבדיקת ddPCR, הנחשבת יקרה יחסית בתחום. לדוגמה, ניתן יהיה לבדוק צוותים רפואיים באמצעות בדיקה זו ולבודד אותם בשלבים מוקדמים יותר של ההדבקה - ובכך למנוע הדבקה ובידוד של צוותים נוספים ופגיעה בתפקוד מערכת הבריאות. יודגש כי נדרשת הכשרה ייעודית כדי ליישם שיטה זו במעבדה.

מקורות

1. מחקר סיני המשווה בין RT-PCR ל-ddPCR:
<https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciaa345/5812997>
2. דיווח של חברת Bio-Rad באתר The Scientist על השימוש במכשירים מבוססי dd-PCR לצורך אבחון נגיף הקורונה:
<https://www.the-scientist.com/the-marketplace/new-studies-find-bio-rads-qx200-droplet-digital-pcr-system-can-detect-covid-19-with-greater-sensitivity-and-precision-than-other-existing-molecular-tests-67353>
3. הסבר על ddPCR באתר BioRad:

<https://www.bio-rad.com/en-il/applications-technologies/droplet-digital-pcr-ddpcr-technology?ID=MDV31M4VY>