



מרכז המידע והידע הלאומי למערכה בקורונה
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 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 שבודד והוגבר מתוך 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-gx200-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>