



מרכז המידע והידע הלאומי למערכה בקורונה
מסמך מספר 185

ניתן להגדיל משמעותית את תפוקת מערך הבדיקות ולהוזילן על בסיס התשתית הקיימת, באופן שיסייע להתמודדות עם מגפת הקורונה

עיקרים

1. **הגדלת היקף הבדיקות** לגילוי נגיף הקורונה נחשבת בעיני רוב מדינות העולם **צעד הכרחי ומרכזי** במימוש אסטרטגיית היציאה להתמודדות ולסיום המשבר שפקד אותן עם התפשטות הנגיף.
2. הגדלת היקף הבדיקות מאפשרת לזהות מספר רב יותר של נשאים, לבודדם ולקטוע את שרשראות ההדבקה. כמו כן, היא **עשויה לתרום בזיהוי מוקדי תחלואה, בשחרור חלקים נרחבים במשק, ואף בהקטנת רמת התחלואה הכללית.**
3. **ישראל** נחשבת אחת מהמדינות המובילות בעולם בהיקף הבדיקות לנפש, אך **בד בבד היא סובלת מתחלואה רבה**, המעלה את הצורך בהגדלה מתמדת של היקף הבדיקות לגילוי נגיף הקורונה. **היקף הבדיקות היומיות הנדרש, צפוי להיות גדול גם במהלך החורף הקרוב בישראל, ונדרשת היערכות לכך.**
4. מערך הבדיקות הקיים כיום בארץ מסתמך **על מתווה בדיקה יחיד**, שבבסיסו **בדיקת RTqPCR**. המתווה מזהה חולים **ברגישות גבוהה** ביחס לכל בדיקה אחרת, אך **אינו מאפשר את הגדלת התפוקה הנדרשת** בעת הזו. בדיקה זו מצריכה מכשור מיוחד, יכולה להתבצע במעבדה ייעודית בלבד ועל ידי עובדים מיומנים. כמו כן, כמות הבדיקות היומיות הניתנות לביצוע מוגבלת על ידי סך הזמן הדרוש לכל אחד מן השלבים המרכיבים אותה.

5. בבחינת חלופות ושינויים אפשריים למתווה זה, אשר ייתנו מענה לצרכים בארץ, נדרש לנתח ולסקלל **מספר מאפיינים** של הבדיקות (דיוק, מהירות, תפוקה ומחיר) – **ולא להתמקד במאפיין אחד בלבד**. לדוגמה, בדיקה מהירה מאוד עשויה להיות בעלת תפוקה נמוכה¹ במידה שניתן לבדוק במסגרתה מספר אנשים מצומצם, על אותה תשתית, בפרק זמן נתון.
6. ניתוח המאפיינים של מגוון טכנולוגיות בדיקה הזמינות כיום מעלה להבנתנו, **כי בדיקת ה-RTqPCR**, הנהוגה כיום, עודנה מהווה את **הבסיס למענה על רוב צורכי הבדיקות** הנדרשות בארץ. להבנתנו, **המפתח להגברת התפוקה של מערך הבדיקות** טמון בביצוע **שינויים נקודתיים בשלבים במתווה הבדיקה הנוכחי**, זאת תוך עמידה בזמני הבדיקה כפי שנדרשים להתוויות השונות, במחיר נמוך ביחס לחלופות ובמאפייני דיוק שאין שני להם.
7. במסגרת השיפורים המוצעים, ניתן למנות: נטרול דגימות בחום; בדיקה ללא הפקת RNA (Direct PCR); איגום מטושים ומבחנות (בתרחישים המתאימים לכך) במקום לדגום אחד-אחד; ביצוע דיגום עצמי במקום על ידי דוגם ועוד.
8. הטמעת השיפורים במתווה הנוכחי תאפשר **להרחיב בצורה ניכרת את היקף הבדיקות ולהוזילן, ללא שינוי בתפיסת ההפעלה של מערך הבדיקות** (קרי את מי בודקים קודם ובאיזו שיטה). זאת, **באמצעות שימוש בבדיקות שרגישותן גבוהה**, אשר תובלנה **לכל היותר, להחמצת שיעור קטן של נשאים**, המוערכים כבעלי **כושר ההדבקה הנמוך ביותר**.
9. בפועל, כדי לייצר **התייעלות משמעותית** מומלץ לקדם **תוכנית לאומית להטמעה מהירה של מספר שיפורים במתווה הנוכחי, אשר חלקם כבר אומצו ברחבי העולם**.

¹ תפוקת הבדיקות הינה שקלול של המהירות המאפיינת את הבדיקה, ושל סך הבדיקות אותן ניתן לבדוק במקביל. כלומר, במידה ובדיקה מסוימת הינה מהירה יחסית, אך לא ניתן לבדוק באמצעותה מספר רב של דגימות במקביל, תפוקתה צפויה להיות נמוכה.

10. על תוכנית זו לכלול **תהליכי תיקוף במקביל לשיפור המתווה הנוכחי של תהליך העבודה במעבדה, בהיבטי זמן ותפוקה** (בדגש על פתיחת "צווארי בקבוק" בתהליך). בראייתנו, בתהליך זה קיים צורך לכלול **מחקר טכנולוגי**, אשר מוביליו יהיו אמונים על הנגשת הידע היישומי הנצבר בעולם בנושא, באופן שיאפשר את קידום השינויים בצורה מיטבית.

11. נוסף על כך, על התוכנית לכלול **ביצוע מספר שינויים במעטפת התהליך המעבדתי**, אשר יתמכו את העלייה בהיקף הבדיקות, ובהם הבטחת ההתממשקות של תוצאות הבדיקה בצורה ממוחשבת בין הגופים הרלוונטיים, תכנון תהליכי רכש והיערכות לאיסוף דגימות נרחב.

12. כמו כן, **באופן מיידי**, אנו ממליצים להגדיל את תפוקת מערך הבדיקות באמצעות הרחבה ניכרת של השימוש **באיגום מטושים** (שנבדק ואומת בארץ), **בעבור מתווים שלהם הוא מתאים**. שיפור זה **צפוי להגדיל משמעותית** את תפוקת הבדיקות ליום (אף אם יבוצע במתווים מוגדרים בלבד), והוא **בעל השפעה מינורית על רגישות הבדיקות**.

13. בשורה התחתונה, יישום התוכנית המוצעת במסמך זה **יאפשר להערכתנו להגדיל את היקף הבדיקות למאות אלפי נבדקים ביום** בטווח של שבועות, על בסיס התשתית הקיימת, ובכך **צפוי לתרום להתמודדות** יעילה עם מגפת הקורונה.



הצעות שנבחנו במסגרת הדוח וניתוח השפעתן על התפוקה והרגישות, ביחס למתווה הנוכחי (הסבר מפורט על השיטות כמו גם אופן החישוב מפורט בהמשך הדוח)

שינוי מוצע	תוספת תפוקה	רגישות יחסית
*Direct PCR	675%	92%
איגום מטושים	510%	99%
איגום דגימות	247%	94%

*ביצוע ריאקציות RTqPCR על דגימה שלא עברה הפקת RNA. בדוגמה מחושב על פי שימוש משולב עם פלטות 384

שלבי הבדיקה במתווה הקיים

1. מתווה הבדיקה הנהוג כיום מורכב ממספר שלבים:

א. **דיגום** - דיגום מטוש לרקמות האף והלוע. לאחר הדיגום מוכנסים המטושים למבחנה המכילה נחל העברה (Viral transport medium, VTM). החומר הנגיפי, כמו גם שאריות תאים אנושיים שנדגמו במטוש, עוברים לנחל ה-VTM אשר עליו מבוצעת הבדיקה.

ב. **נטרול** - עובדים ממוגנים בחדר במעבדה עם דרגת בטיחות ביולוגית שלב 2 ומעלה (BSL – Biosafety level) פותחים את המבחנות המכילות את ה-VTM והמטוש ומעבירים חלק מהנחל למבחנה נוספת המכילה נחל נטרול המפרק את הנגיף (Lysis buffer). תהליך זה חיוני לצורך עבודה עם הנגיף ללא חשש להדבקת הצוותים הבודקים.

ג. **הפקת RNA** - הדגימה המנוטרלת מועברת מאזור העבודה בבטיחות ביולוגית גבוהה ומוכנסת לרובוט בעל זרוע המבצעת פעולות פיפטציה לצורך הפקת החומר הגנטי (RNA - חומצת הגרעין הנגיפי) מהדגימה. התהליך כולל מעבר דגימה ממבחנות מעבדה יחידניות לפלטה ייעודית בעלת 96 באריות (Wells). לאחר מכן, מתבצעת קשירה של החומר הגנטי לחלקיקים מגנטיים מיקרוסקופיים (Magnetic beads), שטיפה של רוב החומרים האחרים מהדגימה ושחרור החומר הגנטי המנוקה בתמיסה ניטרלית (Elution buffer). ההפקה מסלקת את חומרי הדגימה אשר עשויים לעכב את תהליך ה-RTqPCR ומרכזת את החומר הגנטי שהופק, מה שמגביר את רגישות הבדיקה. החומר הגנטי שהופק מחולק לבאריות המכילות את תמיסת ריאקציות ה-RTqPCR.

ד. **בדיקת RTqPCR** מבוססת על שני תהליכים אנזימטיים:

1) הפיכת ה-RNA ל-cDNA על ידי האנזים Reverse transcriptase.

2) הגברה מחזורית באמצעות סבבים תרמיים (PCR – Polymerase chain reaction) של אזורים ספציפיים בגנום הנגיפי על ידי האנזים Taq polymerase.

3. במעבדות נהוג תהליך חד-שלבי (One step). כלומר, שתי הריאקציות האנזימטיות מתרחשות ברציפות באותה מבחנה.

3. ההגברה הגנטית היא תהליך כמותי ולא איכותי (qPCR – quantitative PCR). בתהליך PCR רגיל ישנו שימוש בשני תחלים (Primers), שהם רצפים גנטיים סינתטיים קצרים המתאימים לשני אתרים בחומר הגנטי (באוריינטציה שונה מבחינת גדיל ה-DNA) ועל כן נצמדים רק אליהם. הפעילות האנזימטית מביאה ליצירת מקטע DNA של האתר הגנטי שבין שני התחלים. **בכל מחזור בתהליך ה-PCR ישנה הכפלה ספציפית של החומר הגנטי שבין שני התחלים.**

4. בתהליך ה-qPCR ישנו רצף גנטי סינטטי נוסף המכונה Probe, גלאי, המתאים לאזור הממוקם בין שני אתרי הקישור שאליהם נצמדים התחלים בחומר הגנטי. גלאי מצומדים שני חומרים, סמן פלואורסנטי (fluorophore) ומולקולה הבולעת את האות הפלואורסנטי של הסמן (Quencher) ועל כן אינה מאפשרת את זיהויו. בעת ההגברה הגנטית משוחררים ה-fluorophore וה-Quencher, וכך בכל מחזור הגברה נוצר אות פלואורסנטי שניתן לזהות במכשיר Real time PCR. הסימון הפלואורסנטי המשוחרר מהגלאי הוא הבסיס לדיוק הרב של בדיקות מסוג RTqPCR.

5. ככל שיהיה יותר חומר גנטי בדגימה כך ישוחררו יותר סמנים פלואורסנטיים בכל שלב הגברה, ויתקבל אות פלואורסנטי חזק יותר בשלב מוקדם יותר של תהליך ההגברה.

6. מחזור ההגברה שבו האות הפלואורסנטי המתקבל מהדגימה הנבדקת עובר את סף הרקע שהוגדר לבדיקה מכונה "מחזור הסף" של אותה הדגימה (C_t -Cycle Threshold). ערך זה מבטא את כמות החומר הגנטי ההתחלתי שנמדד בדגימה הנבדקת. למשל, דגימה שהאות הפלואורסנטי שהתקבל ממנה הופיע לאחר 22 מחזורי הגברה מקבלת את הערך C_t 22.

7. תוצאות הבדיקה הן כמותיות לדגימה, אך קיימת אפשרות לשונות מסוימת בדגימה חזרת של נבדק, בשל אופי הדיגום וחוסר פיזור של הנגיף ברקמות הנבדקות. על כן, לרוב נעשה שימוש בתוצאות הבדיקה באופן איכותי (חיובי/שלילי).



צעדי הכנה להעצמת מערך הבדיקות

8. לצורך יישום יעיל של ההצעות המפורטות במסמך זה אנו ממליצים על ביצוע מספר צעדי הכנה בכל מערך הבדיקות (צעדים אלו כשלעצמם אינם בעלי השפעה על התפוקה, אך יאפשרו פתיחת "צווארי בקבוק" והקלת העומס על צוותי המעבדות בעת העלייה המשמעותית המתוכננת בהיקף הבדיקות). נמנה כמה מצעדי ההכנה.

9. **התוויית מבחנות** - המעבדות בישראל פועלות כיום במתווה אחד בעל רגישות מקסימלית. בעוד שחלק מהשינויים המוצגים במסמך זה אינם מביאים לירידה ברגישות הבדיקה (כגון דיגום לליזיס ומעבר לפלטות 384), שינויים אחרים מביאים להגדלת היקף הבדיקות על חשבון פיחות ברגישות הבדיקה.

10. בדיקות שונות נעשות לצרכים שונים. קיים הבדל בין בדיקות קליניות, הנעשות לבעלי תסמינים בעיקר לצורך אבחון המחלה וככלי לקבלת החלטות הנוגעות לטיפול, לבין בדיקות הנעשות לצורכי מניעת הדבקה (קטיעת שרשראות הדבקה, סקירת אוכלוסייה, בדיקות במעברי גבול וכו').

11. בבדיקות למטרת אבחון קליני חיהוי מגעים קיים סיכון בהורדת סף הרגישות. זאת, לא רק בשל חשיבות הבדיקה אלא גם בשל העובדה שאבחון חולים חיהוי מגעים נעשה במקרים רבים בשלבים מתקדמים של המחלה, זמן מה לאחר הופעת התסמינים. סמוך למועד הופעת התסמינים העומס הנגיפי אומנם בשיאו, אך ככל שמתרחקים ממנו מתרחשת ירידה בעומס ולכן הרגישות הנדרשת לגילוי הנגיף גדלה^[5-3].

12. בבדיקות סקר שבהן היעד המרכזי הוא מציאת מספר רב ככל הניתן של חיוביים תוך דגימת אוכלוסייה שאין לגביה חשד אפידמיולוגי ממוקד, ישנה חשיבות רבה להרחבת היקף הבדיקות. בראייתנו, ניתן לבחון קבלת ירידה מסוימת ברגישות

הבדיקה אם המעבר לתהליך החדש יביא במצטבר למציאת יותר חיוביים באוכלוסייה.

13. הירידה ברגישות הבדיקה בדרכים המוצגות בדו"ח זה היא תוצאה של העלאת סף הגילוי המינימלי של הבדיקה. לדוגמה, איגום של שמונה מבחנות מוהל למעשה את הדגימה פי שמונה, על כן יימצאו תאורטית רק דגימות שכיום רחוקות שלושה מחזורי הגברה מסף הגילוי (הבדיקה מגבירה בכל מחזור פי שניים את הדגימה, $8=2^3$ מחזורים). כמו כן, מצטבר מידע מחקרי רב המעיד על כך שפוטנציאל ההדבקה קטן בהתאם לירידה בערכי בדיקת RTqPCR^[9-6]. על כן, הירידה הראשונית ברגישות צפויה לגרום לפספוס זיהוי של בעלי פוטנציאל ההדבקה הנמוך ביותר.

14. באמצעות התוויה שונה של מבחנות (סימון צבע מסוים ו/או ברקוד מתאים) ניתן להפריד באופן פשוט בין דגימות למטרה קלינית זיהוי שרשראות שבהן נדרשת רגישות מקסימלית לבין דגימות למטרת סקר, שבהן ניתן לבחון ירידה ברגישות.

15. **מחשוב וארגון מידע** - כל השינויים המתוארים בדו"ח זה מיועדים להביא להגדלת היקף הבדיקות, אשר יחייב התארגנות מתאימה של מערכת עיבוד הנתונים. על כן, ההיערכות להגדלת היקף מערך הבדיקות מחייבת שינויים וארגון במערך עיבוד הנתונים למטרות איסוף המידע ועיבודו וכן לשלב הדיווח.

16. **יתירות מכשירים** - ככל שמייעלים או מבטלים שלבים מוקדמים בשרשרת הבדיקה, כמו גם כאשר מאוגדות דגימות בשלבים אלו, עשויים להיווצר "צווארי בקבוק" בשלבים מאוחרים בתהליך (ובעיקרם הפקת ה-RNA וריאקציות ה-RTqPCR). היות ששלבים מאוחרים אלו מבוצעים אוטומטית על ידי רובוט המבצע פעולות פיפטציה ומכשיר Real time PCR, ניתן להעצים את עבודת המעבדה במקרה זה באמצעות הצטיידות במכשירים רבים יותר, ללא הגדלת כוח האדם הנוכחי.

מעבר לקיט ישראלי – ערכת הפקה ובדיקה גנטית

17. בחודשים האחרונים פועל במשרד הבריאות צוות ייעודי מול חברות בתעשיית הביו-טק הישראלית לפיתוח ערכות להפקת RNA ובדיקה גנטית לנגיף ("קיטים") מתוצרת הארץ. מאמצים אלו מאפשרים לייצר את כל רכיבי הבדיקה באופן עצמאי (ערכות דיגום, הפקת RNA וריאקציות RTqPCR). הרצפים הגנטיים של התחלים והגלאי תוכננו ונבדקו על ידי צוות הפיתוח המולקולרי במעבדה הלאומית לנגיפים.

18. יתרונות הערכה החדשה הן רמות דיוק גבוהות, זמן קצר ביחס לערכות הבדיקה הקיימות כיום, מחיר נמוך משמעותית והפחתה ניכרת של התלות בגורמים זרים (אשר קיים קושי לצפות את היענותם בעת גלי תחלואה חזקים). נוסף על כך, ניתן ליישם בערכה בדיקה כפולה לנגיף הקורונה ולנגיפי השפעת באותה המבחנה.

19. יכולות הייצור העצמי שהושגו מאפשרות הגדלה משמעותית של מספר הערכות הזמינות, וכפועל יוצא מכך מביאות לעלייה בתפוקה. **כמו כן, באמצעות השליטה על הייצור ניתן להצטייד באופן שונה ברכיבים שונים, ובכך לאפשר את יישום המתווים להעצמת הבדיקות כפי שיפורטו בדו"ח זה, ולהגדיל את התפוקה בצורה משמעותית יותר.**

שינויים אפשריים במתווה הבדיקה הקיים לצורך העצמת מערך הבדיקות

20. כדי לייעל את מערך הבדיקות בצורה מיטבית ניתן לנקוט שינויים במתווה הבדיקה הקיים, ללא הכנסת טכנולוגיות חדשות לתהליך. באופן זה ניתן יהיה להגדיל את היקף הבדיקות באופן מיידי, מבלי להמתין להבשלה של טכנולוגיה נוספת. להלן מספר אפשרויות לשינוי במתווה הבדיקה הקיים.

21. **דיגום לתמיסה משמרת-מפרקת** (בופר ליזיס - Lysis buffer) - במתווה הקיים, המטוש מוכנס לאחר הדיגום לתמיסת VTM. אפשרות נוספת היא שהדיגום ייעשה ישירות לתוך נחל הנטרול (בופר הליזיס)². בדרך זו ניתן יהיה לחסוך את השלב הראשון במעבדה, שבמסגרתו מבוצע הנטרול, להוריד סיכונים ביולוגיים בטיפול בדגימות, ולפשט את הטיפול במעבדה (הדגימה תוכל לעבור ישירות או לאחר שלב נוסף של נטרול בחום לשלב הפקת ה-RNA).

22. נוסף על כך, במתווה הקיים מוספת דגימה מתמיסת ה-VTM לתמיסת הליזיס, ואילו בשינוי המוצע אין צורך לערבב בין שני הנחלים. כך נחסכת המהילה (החיסכון מאפשר את ריכוז הדגימה בנחל ועלייה ברגישות הבדיקה) וכן מתקצר משמעותית זמן הטיפול בדגימה.

23. **נטרול בחום** - דרך נוספת לביטול הצורך בשלב הנטרול הקיים המחייב תשתיות ייחודיות (BSL2/3³) היא לבצע נטרול בחום. מספר מחקרים שפורסמו בנושא מצביעים על כך שהשהייה של דגימות לזמן מוגדר בטמפרטורה מסוימת מביאה לנטרולן המלא^[12-10]. גם ניסויים במעבדה הלאומית לנגיפים הראו כי נטרול הדגימה בחצי שעה של אינקובציה ב-70 מעלות צלזיוס מביא לתוצאות הרצויות. לאחר הנטרול בחום ניתן להמשיך להפיק את הדגימות בשילוב בופר ליזיס או לבטל את שלב ההפקה (Direct PCR, כפי שיפורט בהמשך).

² השינוי המוצע נבדק בניסויים במספר מוסדות ובהם המעבדה הלאומית לנגיפים, המעבדה לנגיפים בבית החולים רמב"ם (בניסוי בהובלת פורום 876 במפא"ת) ובבית החולים הדסה עין כרם. לאחרונה החלו לדגום באופן זה גם במעבדת צה"ל לנגיף הקורונה.

³ כמפורט בסעיף 1 ב'



תיאור של ההבדל בין התהליכים שימוש באינקובציה בטמפ' גבוהה לצורך נטרול הדגימה

המתווה הקיים



נטרול בחום



24. **דיגום עצמי** (באמצעות דגימת רוק או דגימה מהאף) - "צוואר הבקבוק" הראשון
בשרשרת הבדיקה הוא הדיגום המקצועי, הדורש כוח אדם מיומן זמן. בישראל
יש צורך כיום בביצוע דיגום לרקמות האף (נאזופארינגס) והלוע, המצריך מיומנות
מסוימת ולכן מבוצע על ידי אנשי צוות רפואיים. נוסף על כך, אופן הדיגום יכול
להביא לשיעול או לעיטוש, ועל כן מצריך התמגנות רבה המקשה את פעילות
הדיגום. אם הדיגום יתבצע בצורה עצמית, יתבטל הצורך בדוגם מקצועי ממוגן
וייחסך "צוואר בקבוק" אפשרי נוסף בשלב הדיגום. הבדל זה עשוי לקבל
משמעות רבה יותר אם תתאפשר הגדלה משמעותית של תפוקת הבדיקות.

25. דיגום של רקמה נזאלית (קדמת האף) ורקמת רוק אושר על ידי המרכז האמריקני
לבקרת מחלות (CDC), לרבות דיגום עצמי^[13]. בדיקות רוק הודגמו כמדויקות
במיוחד גם בהשוואה לבדיקת אף ולוע^[14], ובדיקות אלו אושרו אף ללא הפקת

RNA על ידי ה-FDA [16-15]. כמו כן, מחקרים מראים כי בבדיקה נזאלית אין פגיעה ברגישות [18-17].

26. ישנן מגוון אפשרויות לביצוע דיגום עצמי, אך נציג שני מתווים אפשריים:

א. דיגום עצמי בבתי ספר - תתבצע חלוקה מראש של מבחנות בעלות ברקוד, שימוינו לפי כיתות בבית ספר, והדיגום יבוצע בהדרכת המורים. לאחר מכן, המבחנות ייאספו על ידי שליח ויועברו למעבדה.

ב. הצבת עמדת בדיקה באזורים שבהם רמת התחלואה גבוהה או במוקדי התפרצות - לאחר הצגת תעודה מזהה תונפק מבחנה בעלת ברקוד. את האיסוף יבצעו שליחים שיעברו בין ניידות הבדיקה ויאספו את המבחנות למעבדה.



תיאור של ההבדל בין התהליכים מעבר מדיגום מקצועי לרקמת הנאזופרינג'ל והלוע לדיגום עצמי (רוק\נזאלי\חלל פה)

המתווה הקיים



דיגום עצמי



27. **בדיקה ללא הפקה (Direct PCR)** - הפקת החומר הגנטי מהדגימה היא תהליך מהותי בעל השלכות על רגישותה של כל סוג בדיקה. תהליך ההפקה מסיר חומרים שעשויים לפגוע בבדיקה ואף להוות "רעש" שיגרום לתוצאות שאינן ספציפיות. על כן, שלב ההפקה מאפשר להגדיל את הדיוק (בעיקר את הרגישות) ולהפחית השפעות רקע שיביאו לשונות בין בדיקות שמקורה בתהליך ההפקה.

28. לשלב הפקת ה-RNA מספר חסרונות: ראשית, לתהליך זה נדרש זמן (2-4 שעות). שנית, היות שהתהליך תלוי ברובוטים ייחודיים, הגדלת מספר הבדיקות עלולה להפוך אותו ל"צוואר בקבוק". שלישית, התהליך דורש חומרים בעלות גבוהה לביצוע ההפקה. לבסוף, התהליך דורש הסתמכות על גורמים זרים באספקת החומרים (אותם ריאגנטים אשר היו חסרים בגל הראשון של המגפה בארץ).

29. אם מבצעים בדיקה ללא הפקה, נדרש לבצע את הדיגום לתוך VTM או ללא נחל דיגום (למשל בדיגום רוק), היות שתמיסת הליזיס מכילה חומרים המעכבים מהותית את התגובות האנזימטיות בשלב ה-RTqPCR. לצורך נטרול ושחרור של החומר הגנטי ניתן לבצע אינאקטיבציה בחום (במקום השימוש בליזיס). שימוש ב-Direct PCR הודגם ברחבי העולם כישים ובעל השפעות שאינן מהותיות על רגישות הבדיקה^[19-22], וכן הודגם במסגרת השימוש בערכת Seegene, הנפוצה גם בישראל^[23]. יישום השיטה בעבור נגיף הקורונה הוכח בישראל במכון הביולוגי בנס ציונה^[12] ובמעבדה הלאומית לנגיפים בתל השומר. כמו כן, ה-FDA אישר את השימוש בערכת בדיקה בשיטה זו, לרבות בשילוב דיגום רוק^[15].

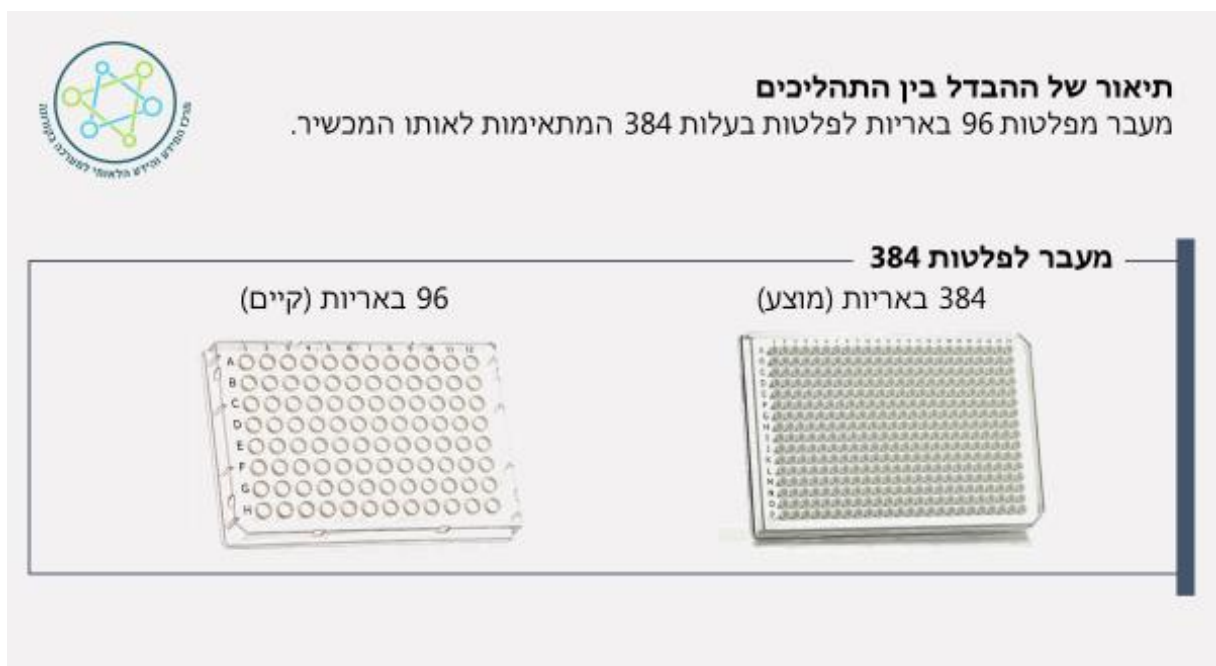


תיאור של ההבדל בין התהליכים ביצוע ריאקציות RTqPCR על דגימה שלא עברה הפקת RNA



30. **מעבר לפלטות 384** - בדיקת RTqPCR מבוצעת במכשירים ייעודיים המבצעים סבבים תרמיים, המביאים למחזורי ההגברה, תוך בחינה בזמן אמת של האות הפלואורסנטי המשוחרר (מכשירי Real time PCR). המכשירים מסוגלים לבדוק בדיקות רבות במקביל. את הבדיקות ממקמים על פלטה ייעודית עם באריות שבהן מחולקת התמיסה לביצוע ריאקציות ה-RTqPCR. לכל בארית מוספת דגימה ממתופל ספציפי (כולל בארית ללא חומר גנטי כביקורת שלילית ובארית עם חומר גנטי סינתטי כביקורת חיובית). הפלטה הסטנדרטית מכילה 96 באריות ועל כן יכולה לבדוק 94 בני אדם (בניכוי הביקורות). אך חלק גדול ממכשירי ה-Real time PCR הם בעלי אפשרות לבדיקה של פלטה עם צפיפות בדיקות גבוהה יותר - 384 באריות באותו משטח, על כן גודל הבארית קטן בהרבה.

31. מעבר לפלטות 384 יאפשר שימוש מועט יותר ברכיבים לריאקציות RTqPCR לכל בדיקה (פועל יוצא של גודל הבארית הקטנה) כמו גם הגברה פי ארבעה של תפוקת המכשיר. כמו כן, מעבר לפלטות 384 מאפשר קיצור מהותי של זמן ריאקציות RTqPCR.



32. **איגום דגימות** - לצורך העצמת התפוקה של הבדיקות ניתן לבדוק דגימות באמצעות איגום. אופן הבדיקה נסקר בהרחבה בדו"ח קודם של המרכז^[24]. היתרון העיקרי בשיטה זו הוא הגברת התפוקה של הבדיקות. כיום מאושרות בישראל שלוש שיטות עיקריות לאיגום דגימות:

א. **איגום מבחנות** - איגום של דגימות בשלב RNA\VTM\LYSIS למבחנה אחת נבדקת. בדיקה חוזרת תבוצע לפרטי המאגד אם המאגד יצא חיובי.



תיאור של ההבדל בין התהליכים איגום של נחל הדיגום ממספר נבדקים למבחנה אחת.

המתווה הקיים



איגום בדיקות



ב. **איגום מטושים** - איגום של מספר מטושים לתוך תמיסת נחל אחת (VTM/Lysis). היתרון בשיטה זו הוא שמירה על רגישות מקסימלית, היות שהמטושים נטבלים בכמות נחל דומה לכמות שבה היה נטבל מטוש בודד. החיסרון הוא הצורך לדגום מחדש את הנבדקים אם המאגד יוצא חיובי.



תיאור של ההבדל בין התהליכים נטילת מספר מטושים לאותה מבחנה.

המתווה הקיים



איגום מטושים



ג. **איגום קומבינטורי** - הכללת כל דגימה במספר מאגדים, באופן המאפשר היווצרות של תבנית שממנה ניתן להסיק אילו דגימות חיוביות מתוך כלל הדגימות^[25]. היתרון בשיטה זו הוא שמתיתר הצורך לבדוק מחדש את פרטי המאגדים החיוביים (יתרון בזמן הבדיקה ויעילות בלוגיסטיקה של פעולת המעבדה). חסרונות הבדיקה הם פגיעה מהותית יותר ברגישות (מתוך הדילול הרב יחסית הנדרש ביצירת המאגדים בשיטה זו), שגיאות מרובות יותר ביצירת המאגדים (נגזר ממספר הפעולות הגדול מהותית בשיטה זו לצורך יצירת המאגדים), חיסכון קטן יותר במשאבים בהשוואה לשיטות האיגום האחרות, וכן השיטה אינה מותאמת לפיזור לא אחד של הדגימות החיוביות בין המדגמים השונים.

ניתוח ההשפעות של השיפורים האפשריים על מאפייני הבדיקה

33. מאפייני הבדיקה מחולקים לשניים: דיוק וביצוע. הסיבה להפרדה בין המאפיינים היא שמאפייני הדיוק (רגישות וסגוליות) הם למעשה מהות הבדיקה, ויש להתחשב בהם טרם מבוצעת בחינה לשינוי בטכנולוגיה או החלפתה.

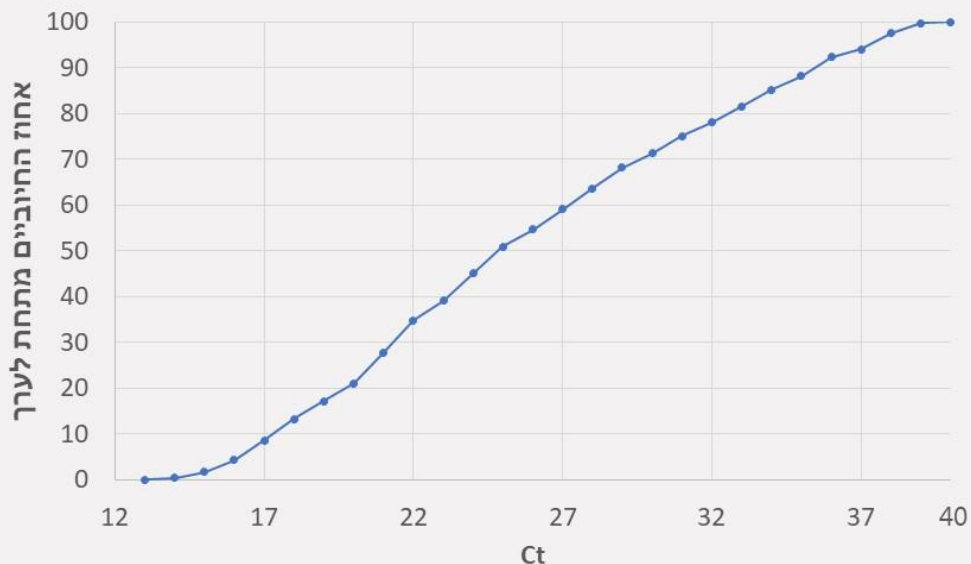
דיוק

34. **רגישות** - רגישות הבדיקות היא שיעור החיוביים האמיתיים שיזוהו. מאפיין זה חשוב בבדיקה הקלינית (לצורך חישוב יעילות הסיכוי שבעל התסמינים אכן חולה) כמו גם לצרכים אפידמיולוגיים (לצורך בידוד המאומתים, קיומן של חקירות יעילות והבנה נכונה של ממדי התפשטות המגפה).

35. לצורך הערכת המשמעות של הפיחות הצפוי ברגישות הבדיקות נבדק המידע הקיים על הירידה הצפויה בערכי ה- C_t במסגרת הצעדים המוצעים בדו"ח זה. ירידה זו הוצלבה על גרף התפלגות ערכי ה- C_t של 527 מאומתים שנבדקו במעבדה הלאומית לנגיפים (ציר X). גרף זה מעריך את אחוז הנבדקים המשוער שיתקבל בירידה ל- C_t מסוים, ובכך מסייע בהערכת שיעור המאומתים שיתפספו בעקבות ירידה ברגישות. הירידה ברגישות ביחס לירידה בערכי ה- C_t תואמת נתונים של בדיקות RTqPCR אחרות מרחבי העולם^[28-26].



אחוז דגימות מתחת לערך C_t



36. חשוב לציין כי כל ערכת בדיקה מביאה לערכי C_t שונים במקצת^[29]. כמו כן, ערכות הבודקות מספר גני מטרה מחזירות לרוב ערכים שונים לכל גן^[30]. על כן, לצורך חישוב רגישות לשם התוויית מדיניות בדיקות יש להתחשב בערכי ה- C_t המתקבלים ביחס לערכת הבדיקה שבה נבדקו. נוסף על כך, יש לזכור כי התוויית בדיקות שונה (סקירה כללית, בדיקת תסמינים וכו') יכולה להביא להתפלגות שונה של ערכי C_t :

א. **איגום דגימות** - אובדן הרגישות בשיטה זו הוא תוצאה ישירה של דילול הדגימה החיובית בדגימות שליליות, ועל כן ניתן לחשב בקירוב את הירידה ברגישות^[31]. כך, באיגום של שמונה דגימות צפויה ירידה ברגישות ב-3 ערכי C_t ($8=2^3$), המתורגמת לפי נתוני המדגם ל-94% רגישות; באיגום של 32 דגימות צפויה ירידה ברגישות ב-5 ערכי C_t ($32=2^5$), המתורגמת לפי נתוני המדגם ל-88% רגישות יחסית לבדיקות הנוכחיות.

ב. **איגום מטושים** שונה משאר שיטות האיגום משום שאינו מביא לדילול הדגימה החיובית על ידי דגימות שליליות^[24], ביחס למצב הקיים. עם זאת, לצורך ייעול האיגום ואפשרות לבדיקת מספר רב של נבדקים ניתן להשתמש בנפח גדול יותר של תמיסת דיגום, שיתאים פיזית לדיגום של יותר מטושים (מידת הדילול שתיווצר תביא לירידת הרגישות בהתאם כך שעשויה להיות ירידה של 0-2 בערכי ה- C_t) – המתורגמת לפגיעה של עד 2% ברגישות יחסית לבדיקה הנוכחית.

ג. **Direct PCR** - אובדן הרגישות בשיטה זו נגרם בעיקר בשל נוכחות חומרים המעכבים את ריאקציית ה-RTqPCR (המסולקים מהדגימה בתהליך הפקת RNA). בניסויים שונים בעולם מדווח על ירידה של עד 5 ערכי C_t בממוצע בין דגימות^[12,16,20], בעוד שימוש בפרוטוקולים מתקדמים, כולל בישראל, הביא לירידה נמוכה יותר של עד 2 ערכי C_t . היות שמטרת דו"ח זה היא מציאת פתרונות מהירים להעצמת הבדיקות, נתייחס בשלב ראשון לירידה של 4 ערכי C_t המתורגמת לפי נתוני המדגם לפגיעה של 8% ברגישות יחסית לבדיקה הנוכחית. יש לציין שכיול פרוטוקול הבדיקה לפי הניסיון שנצבר בארץ ובחו"ל יכול להביא בתוך זמן קצר לירידה של 3 ערכי C_t , המתורגמת לפי נתוני המדגם לפגיעה של 6% ברגישות יחסית לבדיקה הנוכחית. בכל הנוגע לשינוי הרגישות ב-Direct PCR, חשוב לציין כי היא תלויה בהרכב הדגימה המשתנה בין נבדקים, היכולה להכיל ריכוז שונה של חומרים מעכבים לריאקציות RTqPCR. על כן, צפויה בשיטה זו שונות רבה בירידה בערכי C_t בין דגימות שונות (לפי נתוני ניסויי Direct PCR במעבדה הלאומית לנגיפים, הירידה בערכי C_t היא 2-10 בדגימות השונות).

37. **דיגום עצמי** (רוק, נזאלי) - אובדן הרגישות בבדיקת דגימה מסוג זה נובע מהשונות בריכוז הנגיף ברקמות ובנחזלי גוף שונים. הנתונים המחקריים מראים על ירידה קלה בדגימה נזאלית (עם או בלי שילוב עם דגימת לוע) בהשוואה לנאזופארינג'אל הנהוגה בישראל^[21,32,33]. לצורך דו"ח זה נחשב ירידה של 1 C_t

במעבר לדגימה נזאלית או דגימת רוק (97.5% רגישות יחסית). כאמור, עצם הדיגום העצמי אינו מוריד רגישות בדגימות אלו. כמו כן, יש לציין כי המידע שהצטבר על השונות בריכוז הנגיף בין רקמות ונוזלי גוף הוא בעיקר לזמן שאחרי הופעת תסמינים. בכל הנוגע לתקופה שלפני הופעת התסמינים (כמו גם אצל חולים חסרי תסמינים) המידע על כך ועל הקינטיקה בריכוז הנגיף חסר. עם זאת, יש נתונים ראשוניים על רגישות גבוהה יותר ברוק טרם הופעת התסמינים ביחס לדגימה מהאף^[14].

38. כמו כן, ישנם צעדים אשר יכולים לאפשר הגדלה של היקף הבדיקות בישראל ללא פגיעה ברגישות ועל בסיס המתווה הקיים. לדוגמה, נטרול בחום, דיגום לליזיס (שאף יכול לשפר את רגישות הבדיקה), מעבר לפלטות 384, יתירות מכשירים וייצור של ערכת הבדיקה הישראלית.

סגוליות

39. כל ההצעות בדו"ח זה מבוססות על שימוש בשיטת RTqPCR. על כן, הסגוליות האנליטית של הבדיקה (הנובעת מתגובתיות צולבת – זיהוי שגוי של רצף גנטי אחר) נשארת מלאה (100%). קיימת אפשרות לירידה בסגוליות מתוך זיהום צולב במעבדה או תקלות ברישום. אפשרות זו, כפי שחושבה בעבר^[34], זניחה במתווה הקיים אך צפויה להתגבר ככל שיגברו העומס על המעבדות והעומס הלוגיסטי הכולל. היות שהפגיעה בסגוליות אינה ממקור של תגובתיות צולבת, בדיקה נוספת של הנדגם היא בעלת אותה סגוליות בדיקה. לכן, גם אם יורדת הסגוליות מ-100% ל-99%, בדיקה נוספת של הנדגם תעלה את הסגוליות ל-99.99%. על כן, אם יעלה רצון להקטין את הסיכון לסגוליות, ניתן לבצע בדיקה חוזרת רק לשיעור הנבדקים החיוביים מסך כל המדגם^[34].

היערכות לוגיסטית

40. כל שינוי בשרשרת הבדיקה מצריך שינוי לוגיסטי והיערכות מתאימה של חלק משרשרת הבדיקה:

א. **דיגום לליזיס** - מבחינת המעבדות ישנה הקלה בהיבט הלוגיסטי בדיגום לליזיס. אומנם, אם המטוש אינו מוצא מהמבחנה בשטח, עדיין קיים צורך בפעילות בחדרי BSL2/3, היות שחלקי המטוש שאינם טבולים בתמיסה המנטרלת יכולים להכיל נגיף פעיל, אך משך פעילות זו מצטמצם היות שאין צורך לערבב את נחל ה-VTM עם בופר הליזיס. מבחינת מערך הדיגום נדרשת היערכות בטיחותית, היות שנחל הדיגום יכול להוות סיכון מסוים, בייחוד במגע עם העור. יש לציין **שהסיכון הביולוגי במעבר לדיגום בליזיס קטן, היות שהנחל מנטרל את פעילות הנגיף בעוד שה-VTM משמר את הנגיף פעיל.**

ב. **נטרול בחום** - מעבר לנטרול בחום **מבטל את הצורך בעבודה בחדרי BSL2/3.** מבדיקת התהליך עם מנהלי מעבדות רבים בישראל עולה שחלק עיקרי עד רוב כוח האדם במעבדות עוסק בחלק זה של פתיחת המבחנות וערבוב דגימה עם נחל ליזיס. בשימוש במבחנות מתאימות, לאחר הנטרול בחום והוצאת המטוש מתוכן, יכולות המבחנות לעבור ישירות אל רובוט הפקת ה-RNA. הנטרול בחום דורש הצטיידות בתנורים.

ג. **דיגום עצמי** - דיגום עצמי מפחית מהעומס על מערך הדיגום, אך דורש היערכות להסביר לנדגמים על אופי הדיגום. מעבר לכך, אין צורך בדוגם מקצועי כלל אלא באיסוף וברישום בלבד. מבחינת המעבדות, אם מדובר בדיגום רוק יש להתאים את פרוטוקול המעבדה לנחל החדש (שיכול להיות צמיגי יותר מ-VTM). בדגימה נזאלית אין כל שינוי מבחינת המעבדות.

ד. **Direct PCR** - מבחינת המעבדה, נדרשת הכנה לפרוטוקול חדש בעבודת הרובוט, המחלק את הדגימות לפלטת ה-PCR בלבד ואינו מבצע הפקה.

ה. **מעבר לפלטות 384** - מבחינת המעבדה, אם מכשירי Real time PCR ורובוטי ההפקה אינם תואמים סוג זה של פלטות יש לרכוש מכשור מתאים. כמו כן, ניתן לשקול תכנות חדש לתוכניות RTqPCR מהירות יותר.

1. איגום דגימות:

i. איגום מטושים - דורש היערכות של מערך הדיגום לסוג זה של דיגום קבוצתי.

ii. איגום מבחנות ואיגום קומבינטורי - דורשים היערכות של צוותי המעבדה לסוג זה של בדיקות, תכנות חדש של רובוט ההפקה ומערכת נתונים לביצוע סוג זה של איגום ולסיוע בחזרה למבחנות ממאגדים חיוביים (אם כי באיגום קומבינטורי צפויה חזרה קטנה משמעותית על דגימות).

ז. **ערכת בדיקה ישראלית** - דורשת כיוול נקודתי לסוג הבדיקה החדש (בדומה לכל קיט אחר). מעבר לכך, הערכה מותאמת לעבודה עם מערכות שונות ומוכוונת להקלת תהליך הבדיקה כולו.

תפוקה

41. אחד המאפיינים החשובים לבדיקות בעת התפרצות הוא תפוקת המעבדות. בתקופה זו אנו רואים צורך ברור בהגברת תפוקת המעבדות בישראל, אף שהמעבדות פועלות בהתגייסות מלאה ובניצול מלא של התשתיות הקיימות.

42. יבוצע **חישוב מופשט הנותן הערכה כללית לשיפורים** המוצעים בדו"ח. החישוב יבוצע על מעבדה תאורטית בעלת שני רובוטים מסוג Star של חברת Hamilton וארבעה מכשירי Real time PCR מסוג CFX של חברת BioRad (ציוד בדיקה נפוץ במעבדות בישראל), העובדת 24 שעות במשך שבעה ימים בשבוע.

היות שתהליך הבדיקה מתבסס על מעבר בין תחנות במעבדה שבהן מתבצעים התהליכים, בכל שיפור נאתר את השלב הארוך ביותר (השלב המגביל) ונחלק את שעות היממה בו לצורך מציאת מחזורי הבדיקה. את התוצאות נציג כמכפלה של מספר הבדיקות על פי המתווה הקיים.

43. **המספרים שיחושבו הם הערכה תאורטית מקורבת לפוטנציאל אם** אספקת המבחנות סדירה לאורך היממה. על כן, **יש להתייחס ליחס שיינתן בהשוואה לתפוקת המעבדה במתווה הנוכחי ולא למספר התשובות הקונקרטי המחושב.** כמו כן, החישובים נעשו כאן בעיקר על בסיס פעולות הציוד המעבדתי ולא הובאה בחשבון הפעילות האנושית בתהליך. על כן, שוב, יש להתייחס לתוצאות אלו כאל הערכה כללית בלבד.

44. **הזמנים במתווה הקיים** ביישום לפי המכשור שנבחר לדוגמה הם:

א. נטרול – 60 דקות ל-300 דגימות (בהתחשב בצוות של חמישה אנשים במתקן BSL2/3).

ב. הפקת RNA – 135 דקות + 15 דקות הכנה ל-188 דגימות (שתי פלטות במקביל, בכל פלטה שתי דגימות ביקורת).

ג. ריאקציית RTqPCR - 105 דקות.

ד. ניתוח תוצאות בדיקה – 20 דקות.

ה. השלב המגביל, אם כן, במתווה הקיים לפי הדוגמה הוא **הפקת RNA**. לפי החישוב, **ביממה ניתן לבצע בממוצע 9.6 הפקות RNA** בכל אחד משני הרובוטים, 188 דגימות בכל מחזור וסה"כ כ-3,609 תשובות ביממה.

45. כעת נחשב את השינוי בתפוקה ביישום של כל אחד מהצעדים שפורטו בדו"ח.

דיגום לבופר ליזיס

461. הדיגום לבופר ליזיס מקצר את תהליך הנטרול בבופר ליזיס והאינקובציה לאחר הנטרול במעבדה. עם זאת, עדיין יש צורך בעבודה במתקן BSL2/3 לצורך הוצאת המטוש (אשר החלק בו שאינו טבול נחשב מזוהם).

47. **מבחינת זמן ההפקה, שהוא הזמן המגביל, בדוגמה אין שינוי.** עם זאת, מתקצר זמן האינקובציה שיש לדגימה היום לאחר הוספת בופר הליזיס (כ-20 דקות).

נטרול בחום

48. נטרול מבחנות בחום פותר באופן מוחלט את הצורך בעבודה במתקן BSL2/3, היות שמנוטרלים גם נגיפים על חלקי המטוש שאינם טבולים בנוזל. עובדה זו מביאה לקיצור רב של החלק הראשון לפני הפקת ה-RNA, אך מבחינת זמן ההפקה, המהווה שלב מגביל, אין שינוי ולכן **התפוקה אינה משתנה.**

49. עובדה חשובה באשר לשלב הראשון הקודם להפקת ה-RNA (ובעיקר לנטרול הדגימה) היא שמדובר בשלב הדורש כיום עבודה ידנית מרובה. הקלה או ביטול של שלב זה באמצעות נטרול בחום או דיגום לבופר ליזיס משחרר כוח אדם רב שעסוק במתווה הנוכחי בהתעסקות הראשונית בדגימות. הדבר יכול לסייע לניהול יעיל של המעבדה ביישום צעדים מגבירי תפוקה (כלומר, שינויים אלו יאפשרו הגברת התפוקה). מנגד, בהינתן קיצור או העצמה בשלב ההפקה, כפי שיפורט בהמשך, תהיה לצעדים אלו משמעות ישירה רבה בכל הנוגע להגברת התפוקה.

Direct PCR

50. בשיטה זו **מדלגים על הפקת RNA**, השלב המגביל בדוגמה. עם זאת, עדיין ישנו צורך בעבודת פיפטציה ברובוט לצורך חלוקה של הדגימה לפלטת ה-PCR. זמן

זה קצר משמעותית מזמן **ריאקציית ה-RTqPCR, ההופך להיות השלב המגביל**. באופן זה, המעבדה בדוגמה תביא לממוצע של 13.7 סבבים של ארבעת מכשירי RTqPCR ולהגיע לכ-5,151 תשובות ביממה (פי 2.9 תשובות ביחס למצב הקיים).

קיט הפקה ישראלי מהיר

51. אחד היתרונות של קיט הפקה הישראלי הוא **זמני העבודה המקוצרים - 95** דקות הפקה (+15 דקות הכנה שנשארות) ו-66 דקות ריאקציית RTqPCR בקיט בדיקת ה-PCR הישראלי. דבר זה משאיר עדיין **את זמן ההפקה כגורם המגביל**. במעבר לערכת הבדיקה הישראלית המהירה יוכלו שני הרובוטים בדוגמה לבצע 26.2 הפקות בממוצע ביום, משמע 4,922 תשובות ביממה (פי 1.36 תשובות ביחס למצב הקיים).

איגום מטושים

52. אחד היתרונות באיגום מטושים הוא שפעולה זו **אינה מביאה לשינוי בפעילות המעבדה**. מבחנת האיגום אינה שונה מכל מבחנת מעבדה אחרת מבחינת התהליך האנליטי. בהינתן גודל ממוצע של מאגד עם שמונה אנשים, **ניתן להכפיל פי שמונה את מספר התשובות** הניתנות בדוגמה ל-28,872 תשובות ביום⁴.

53. אם מאגד יוצא חיובי, יש לחזור אל הנבדקים במאגד, לדגום אותם פרטנית ולשלוח את הדגימה למעבדה לבדיקה. להמחשה, **במדגם בו אחוז החיוביים עומד על 0.5%**, נצטרך לחזור על 3.9% מאגדים באופן מקסימלי^[35] ולכן התפוקה היומית יורדת ל-2,745 מאגדים שיובילו ל-21,964 תשובות, **פי 6.1 מאשר מהמצב הקיים**.

⁴ בדיקה זו מתאימה לקפסולות שבהן נבדק חיובי אחד משמעותו כניסה של שאר הקפסולה לבידוד ואשר ניתן לדגום את הקפסולה יחד.

איגום מבחנות

54. איגום מבחנות מאפשר העצמה של מספר הנבדקים לבדיקה באופן משתנה, משמע ניתן לאגם מספר שונה של בדיקות לפי שיעור החיוביים באוכלוסייה^[24]. במצב הקיים היום, כל הכפלה של כמות הדגימות באיגום תגרום לכך **ששלב הנטרול הידני הופך לשלב המגביל** מבחינת זמן, על כן **אין יתרון בתפוקה במצב זה**.

מעבר לפלטות 384

55. **שלב ההפקה הוא הגורם המגביל**, על כן מעבר לפלטות 384 המעצים את תפוקת מכשירי ה-RTqPCR **לא יביא לשינוי בתפוקה**.

דיגום עצמי

56. הדיגום העצמי מקל ומעצים את שלב הדיגום, אך כשלעצמו **אינו משנה את משך הבדיקה** במעבדה.

57. לסיכום, כפי שנותח, **חלק מהפתרונות מביאים להעצמה של יכולות הבדיקה בעוד חלקם אינם מביאים לשיפור כשלעצמם** (לפי הדוגמה), **היות שהם אינם פותרים את "צוואר הבקבוק" הנוכחי**. לאחר פתרון "צוואר הבקבוק" הנוכחי (כיום - הפקת RNA) עשוי להיווצר "צוואר בקבוק" חדש, במקום אחר בשרשרת הבדיקה במעבדה. במצב שנוצר, פתרונות שלא הביאו עד כה ליתרון בנייתוח ההשפעה על התפוקה, מביאים בשילוב שיפורים אחרים לעלייה נוספת בתפוקה. נדגים מספר שילובים.

נטרול בחום ואיגום מבחנות

58. כאמור, איגום מבחנות מביא לכך ששלב הנטרול הופך לשלב המגביל במצב הקיים. נטרול בחום מבטל לחלוטין את הנטרול המסורבל באזור BSL2/3 ולמעשה ניתן לספק להפקת ה-RNA מבחנות בקצב מזורז (בהינתן שחמישה

עובדי הנטרול פנויים לקבלה ולרישום של המבחנות והכנסתן יחד במעמד קרטון הייעודי שעומו הגיעו לתוך תנור הנטרול). במצב זה **העבודה ברובוט חוזרת להיות השלב המגביל** אם מפעילים איגום דגימות.

59. נוסף על כך, יצירת המאגדים עצמה היא שלב ארוך יחסית. ברובוט המצוין בדוגמה, כאשר המבחנות מוכנסות ומסודרות במעמד הקרטון ישנה זרוע ייעודית בעלת שמונה פיפטות המסוגלות לקחת דגימה בו-זמנית משמונה דגימות ולהעביר לשמונה מבחנות אחרות ב-40 שניות. אם רוצים ליצור מאגדים יש לחזור על הפעולה ולהעמיס עוד שמונה דגימות על שמונה מבחנות היעד.

60. בדוגמה שלפנינו נחשב את הזמן המגביל לפי זמן יצירת המאגדים + זמן ההפקה הכולל, הקטן ל-135 דקות (זמן העברת הדגימות לפלטת 96 באריות מנוכה, היות שזהו תוצר תהליך האיגום). בהינתן 0.5% חיוביים (בהתאם לסקירת אוכלוסייה כללית, דוגמת מגן אבות) נבחר במאגד שמונה דגימות, שיביא לזמן איגום של 128 דקות. מדובר ב-5.47 מחזורים לרובוט ליום וב-16,470 תשובות ליום לשני הרובוטים יחד.

61. בדומה לחישוב של איגום המטושים, גם כאן אנו מתחשבים בבדיקת המאגדים החיוביים על חשבון התפוקה, דבר המקטין את התפוקה בפועל ל-12,530 תשובות (פי 3.47 מהמצב הקיים היום).

איגום קומבינטורי

62. ביחס לאיגום מבחנות רגיל, באיגום קומבינטורי זמן חלוקת הדגימות למאגדים מתארך היות שכל דגימה מחולקת למספר מאגדים. בדוגמה השתמשנו באיגום של 1,950 דגימות לשתי פלטות 596. באלגוריתם איגום זה זמן החלוקה גדל מ-40 שניות ל-72 שניות לשמונה דגימות, מה שמגדיל את משך האיגום הדגימות

⁵ החישוב בוצע עם מדעני חברת Less tests על בסיס האלגוריתם המתאים שיצרו לאחז החיוביים ואופן העבודה במעבדה בדוגמה.

ל-292 דקות. יחד עם זמן הפקת ה-RNA ניתן לבצע ביממה בממוצע 6.74 סבבים בשני הרובוטים, שיבדקו 13,152 דגימות, משמע **פי 3.64** מהמצב הקיים היום בדוגמה.

63. חשוב לציין שלצורך הדוגמה הובא בחשבון פיזור שווה של דגימות חיוביות בין המאגדים. עם זאת, כאשר שיעור החיוביים מפוזר באופן לא אחיד, **באיגום הפשוט** נוצרים יותר מאגדים שבהם יש יותר מדגימה חיובית אחת ועל כן פוחת בממוצע מספר המאגדים שיש לחזור על פרטיהם, ובכך **עולה תפוקת השיטה. באיגום הקומבינטורי**, פיזור לא אחיד מביא למאגדים שבהם שיעור החיוביים עולה על זה שעל פיו חושב האלגוריתם, מה שמצריך חזרה נוספת על דגימות (ואם שיעור החיוביים עלה מעל רף מסוים, חזרה על כל התהליך שנית). על כן, **יורדת התפוקה** ביחס לחישוב. מגמה זו מתחזקת ככל שקטנה אחידות הפיזור. היות שפיזור החיוביים בין המדגמים והמעבדות אכן אינו שווה כיום, בחינת התפוקה של שני סוגי איגום המבחנות חייבת להתבצע בהתאם לפיזור הקיים.

נטרול בחום ופלטות 384 ו-Direct PCR

64. כאשר פוסחים ב-Direct PCR על הפקת ה-RNA, השלב המגביל עובר אל השלב הראשון של קבלה רישום ונטרול הדגימה. אם מבוצע נטרול בחום ופוסחים על שלב הפקת ה-RNA, **השלב המגביל הוא ריאקציית ה-RTqPCR**. הרובוט המצוין בדוגמה יכול לחלק דגימות לשתי פלטות PCR בעלת 384 באריות ב-64 דקות. אם עובדים על פלטות 384, ריאקציות ה-RTqPCR הופכת מהירה יותר בכ-75% מהזמן כיום (כתוצאה מיכולת של סבבים תרמיים קצרים יותר), משמע כ-79 דקות. ביממה ניתן לבצע 18.2 סבבי RTqPCR מסוג זה, ובחישוב של ארבעת מכשירי ה-Real time PCR ניתן להגיע ביממה בדרך זו במעבדה ל-27,997 תשובות (פי 7.75 תשובות ביחס למצב הקיים).

65. בהגדלה משמעותית של תפוקת המעבדות, "צוואר הבקבוק" צפוי לעבור לשלב הדיגום בשטח. במצב כזה דיגום עצמי יהיה מכפיל הכוח הנדרש.

סיכום והמלצות

66. **ישראל נחשבת מהמדינות המובילות בעולם בהיקף הבדיקות לנפש, אך בד בבד היא סובלת מתחלואה רבה, המעלה את הצורך בהגדלה מתמדת של היקף הבדיקות לגילוי נגיף הקורונה. מספר הבדיקות הנדרש ליום להתמודדות עם מגפת הקורונה בארץ מצוי במגמת עלייה. גם בחורף הקרוב צפויה עלייה בדרישה לבדיקות, ונדרש להיערך לכך.**
67. **מעריך הבדיקות בישראל מסתמך כיום אך ורק על מתווה בדיקה בודד בעל דיוק מרבי. מדובר בבדיקה המזהה חולים ברגישות גבוהה ביחס לכל בדיקה אחרת, אך גם בבדיקה האורכת זמן, דבר המשליך על מספר הבדיקות ליום.**
68. **ניתן להגדיל בצורה ניכרת את היקף הבדיקות ולהוזילן, על בסיס הטכנולוגיה הקיימת (PCR), באמצעות יישום שינויים במתווה הבדיקה.**
69. **בפועל, כדי לייעל מהותית את התהליך אנו ממליצים לקדם תוכנית להטמעה מהירה של מספר שיפורים במתווה, בדומה לאלו המוצעים בדו"ח, מאפיינים שחלקם כבר מצויים ברחבי העולם.**
70. **על תוכנית זו לכלול תהליכי תיקוף במקביל למספר צעדים לשיפור במתווה במסגרת העבודה במעבדה. נוסף על כך, על התוכנית לכלול כמה שינויים במעטפת התהליך המעבדתי, שיתמכו את העלייה הצפויה במספר הבדיקות - הבטחת התממשקות תוצאות הבדיקה בצורה ממוחשבת בין הגופים הרלוונטיים, תכנון תהליכי רכש והיערכות לאיסוף דגימות נרחב.**
71. **ברחבי העולם מבוצעים ניסויים בנוגע לרוב השינויים המוצעים בדו"ח - חלקם כבר יושמו בשטח, ושינויים אחרים נבחנים במערכת הבריאות כיום. בראייתנו, קיים צורך לכלול בתהליך הבדיקה וההטמעה של שינויים במעריך הבדיקות מחקר טכנולוגי, אשר מוביליו יהיו אמונים על הנגשת הידע בנושא באופן שיאפשר את קידום השינויים בצורה מיטבית.**

72. להערכתנו, יישום התוכנית המוצעת בדו"ח **יאפשר להגדיל** על בסיס התשתית הקיימת את היקף הבדיקות בישראל **למאות אלפי נבדקים ביום בטווח של שבועות, ובכך צפוי לסייע בהתמודדות עם המגפה, ולהיערכות משופרת ויעילה עם האפשרות לגל שלישי בחורף הקרוב.**

מקורות

- [1] מ. ה. והידע, “בדיקות אנטיגנים מהירות עשויות להרחיב את סל הכלים לאיתור וקטיעה של שרשראות הדבקה, ” 2020.
- [2] מ. ה. והידע, “בדיקות בשיטת ההגברה האיזותרמית עשויות להשלים את מערך ה-PCR כשנדרשת תוצאה מהירה ‘בשטח’, אך מחייבות ולידציה, ” 2020.
- [3] X. He *et al.*, “Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19,” *Nat. Med.*, 2020, doi: 10.1038/s41591-020-0869-5.
- [4] L. Zou *et al.*, “SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients,” *New England Journal of Medicine*. 2020, doi: 10.1056/NEJMc2001737.
- [5] R. Wölfel *et al.*, “Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019,” *Nature*, 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2196-x.
- [6] J. Bullard *et al.*, “Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples,” *Clin. Infect. Dis.*, 2020, doi: 10.1093/cid/ciaa638.
- [7] A. Singanayagam *et al.*, “Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020,” *Euro Surveill.*, 2020, doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001483.
- [8] B. La Scola *et al.*, “Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards,” *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2020, doi: 10.1007/s10096-020-03913-9.
- [9] K. Quicke *et al.*, “Longitudinal Surveillance for SARS-CoV-2 RNA Among Asymptomatic Staff in Five Colorado Skilled Nursing Facilities: Epidemiologic, Virologic and Sequence Analysis.,” *medRxiv Prepr. Serv. Heal. Sci.*, 2020, doi: 10.1101/2020.06.08.20125989.
- [10] B. Pastorino, F. Touret, M. Gilles, X. de Lamballerie, and R. N. Charrel, “Heat Inactivation of Different Types of SARS-CoV-2 Samples: What Protocols for Biosafety, Molecular Detection and Serological Diagnostics?,” *Viruses*, 2020, doi:

- 10.3390/v12070735.
- [11] R. Barza, P. Patel, L. Sabatini, and K. Singh, "Use of a simplified sample processing step without RNA extraction for direct SARS-CoV-2 RT-PCR detection," *J. Clin. Virol.*, 2020, doi: 10.1016/j.jcv.2020.104587.
- [12] O. Israeli *et al.*, "Evaluating the efficacy of RT-qPCR SARS-CoV-2 direct approaches in comparison to RNA extraction," *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, doi: 10.1016/j.ijid.2020.08.015.
- [13] Center of Disease Control and Prevention, "Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19," *May 22, 2020.* .
- [14] A. L. Wyllie *et al.*, "Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2.," *N. Engl. J. Med.*, 2020, doi: 10.1056/NEJMc2016359.
- [15] מ. ה. והידע, "שימוש נרחב בבדיקת רוק בשם SalivaDirect שאושרה על ידי ה-FDA ל איתור נגיף הקורונה הינו בעל פוטנציאל משמעותי לייעול תהליכי הבדיקות הקיימים," 2020.
- [16] C. B. Vogels *et al.*, "SalivaDirect: Simple and sensitive molecular diagnostic test for SARS-CoV-2 surveillance One sentence summary," *medRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.08.03.20167791.
- [17] B. E. Tu YP, Jennings R2, Hart B, Cangelosi GA3, Wood RC, Wehber K, Verma P, Vojta D, "Patient-collected tongue, nasal, and mid-turbinate swabs for SARS-CoV-2 yield equivalent sensitivity to health care worker collected nasopharyngeal swabs," *J. Chem. Inf. Model.*, 2013, doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- [18] D. J. McCulloch *et al.*, "Comparison of Unsupervised Home Self-collected Midnasal Swabs With Clinician-Collected Nasopharyngeal Swabs for Detection of SARS-CoV-2 Infection," *JAMA Netw. open*, 2020, doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.16382.
- [19] T. Fukumoto *et al.*, "Efficacy of a novel SARS-CoV-2 detection kit without RNA extraction and purification," *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, doi: 10.1016/j.ijid.2020.06.074.
- [20] J. R. Brown, L. Atkinson, D. Shah, and K. Harris, "Validation of an extraction-free

- RT-PCR protocol for detection of SARS-CoV2 RNA,” *medRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.04.29.20085910.
- [21] M. R. Hasan *et al.*, “Detection of SARS-CoV-2 RNA by direct RT-qPCR on nasopharyngeal specimens without extraction of viral RNA,” *PLoS One*, 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0236564.
- [22] I. Smyrlaki *et al.*, “Massive and rapid COVID-19 testing is feasible by extraction-free SARS-CoV-2 RT-PCR,” *Nat. Commun.*, 2020, doi: 10.1038/s41467-020-18611-5.
- [23] N. Merindol *et al.*, “SARS-CoV-2 detection by direct rRT-PCR without RNA extraction,” *J. Clin. Virol.*, 2020, doi: 10.1016/j.jcv.2020.104423.
- [24] מ. ה. והידע, “אסטרטגיה של איגום דגימות (Pooling) תאפשר הגדלה משמעותית של מספר הנבדקים בישראל, תוך חיסכון במשאבי זמן, כח אדם וציוד,” 2020.
- [25] N. Shental *et al.*, “Efficient high-throughput SARS-CoV-2 testing to detect asymptomatic carriers,” *Sci. Adv.*, 2020, doi: 10.1126/sciadv.abc5961.
- [26] B. W. Buchan *et al.*, “Distribution of SARS-CoV-2 PCR Cycle Threshold Values Provide Practical Insight Into Overall and Target-Specific Sensitivity Among Symptomatic Patients,” *Am. J. Clin. Pathol.*, 2020, doi: 10.1093/ajcp/aqaa133.
- [27] D. Jacot, G. Greub, K. Jatton, and O. Opota, “Viral load of SARS-CoV-2 across patients and compared to other 1 respiratory viruses 2 3,” *medRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.07.15.20154518.
- [28] N. J. Lennon *et al.*, “Comparison of viral levels in individuals with or without symptoms at time of COVID-19 testing among 32,480 residents and staff of nursing homes and assisted living facilities in Massachusetts,” *medRxiv*, p. 2020.07.20.20157792, 2020, doi: 10.1101/2020.07.20.20157792.
- [29] P. B. van Kasteren *et al.*, “Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19,” *J. Clin. Virol.*, 2020, doi: 10.1016/j.jcv.2020.104412.
- [30] J. A. Lieberman, G. Pepper, S. N. Naccache, M. L. Huang, K. R. Jerome, and A. L.

- Greninger, "Comparison of commercially available and laboratory-developed assays for in vitro detection of sars-cov-2 in clinical laboratories," *J. Clin. Microbiol.*, 2020, doi: 10.1128/JCM.00821-20.
- [31] I. Yelin *et al.*, "Evaluation of COVID-19 RT-qPCR Test in Multi sample Pools," *Clin. Infect. Dis.*, 2020, doi: 10.1093/cid/ciaa531.
- [32] A. L. M. Vlek, T. S. Wesselius, R. Achterberg, and S. F. T. Thijssen, "Combined throat/nasal swab sampling for SARS-CoV-2 is equivalent to nasopharyngeal sampling," *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2020, doi: 10.1007/s10096-020-03972-y.
- [33] Y. P. Tu *et al.*, "Swabs collected by patients or health care workers for SARS-CoV-2 testing," *New England Journal of Medicine*. 2020, doi: 10.1056/NEJMc2016321.
- [34] מ. ה. והידע, "עדכונים בנושא רגישות וסגוליות של בדיקות מולקולריות ל-Covid-19."
- [35] H. Shani-Narkiss, O. D. Gilday, N. Yayon, and I. D. Landau, "Efficient and Practical Sample Pooling for High-Throughput PCR Diagnosis of COVID-19," *medRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.04.06.20052159.