

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DEL LAZIO E DELLA TOSCANA M. ALEANDRI**

DELIBERAZIONE DEL DIRETTORE GENERALE

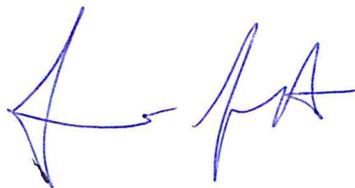
n. 518..... del 30/08/2019

OGGETTO: Organizzazione della attività di Sanger Sequencing.

Proposta di deliberazione n. 34/USD del 08/08/2019

Direttore Sanitario

L'Estensore Dr. Francesco FILIPPETTI



Il Responsabile del procedimento Dr. Francesco FILIPPETTI



Il Dirigente Dr. Andrea LETO



Dr. Antonio BATTISTI



Visto di regolarità contabile..... **n. di prenot.**

Parere del Direttore Amministrativo
Dott. Manuel Festuccia



Favorevole Non favorevole
.....

IL DIRETTORE GENERALE
Dott. Ugo Della Marta



IL DIRETTORE SANITARIO

Dott. Andrea Leto

e

Il responsabile della

DIREZIONE OPERATIVA DIAGNOSTICA GENERALE

Dott. Antonio Battisti

OGGETTO: Organizzazione della attività di Sanger Sequencing.

PREMESSO CHE

- con deliberazione del Direttore Generale n. 556/2017 è stato approvato il Regolamento per l'ordinamento dei servizi dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana come modificato dalla deliberazione del Direttore Generale n. 265/2019;
- nella sezione 17 dell'Allegato 1 del suddetto Regolamento tra le attribuzioni della Direzione Operativa Diagnostica Generale è specificato che “effettua e gestisce prove *omissis* servendosi anche tecniche di caratterizzazione biomolecolare”;
- nell'articolazione della prima richiamata Direzione Operative è all'uopo operativa una Unità Operativa Semplice denominata “Diagnostica e caratterizzazione molecolare, Laboratorio di Riferimento Nazionale (NRL-AR) e Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza (CRN-AR)”;

VISTO CHE

- l'indicazione della Direzione Aziendale è di favorire la competenza trasversale alle varie strutture organizzative relativamente alle attività di diagnostica molecolare, principio già applicato con la Delibera 717 del 31/12/2018 “Progetto di gestione e coordinamento delle attività comuni di diagnostica molecolare della sede centrale e delle sedi periferiche attraverso specifici accordi di lavoro”;
- la Direzione Aziendale ha affidato alla Direzione Operativa Diagnostica Generale il compito di coordinare l'attività di sequenziamento di tipo Sanger (di seguito “Sanger Sequencing”);
- il percorso di condivisione dei principi e degli aspetti organizzativi e gestionali ha visto la partecipazione anche delle Direzioni Operative di Virologia, Microbiologia degli Alimenti, e la UOSD Ricerca e Controllo degli Organismi Geneticamente Modificati con il contributo dell'Ufficio di Staff Ricerca e Innovazione;

- la volontà della Direzione Aziendale affinché i percorsi formativi e di armonizzazione degli aspetti tecnici e delle buone pratiche operative siano condivisi anche con le Unità Operative Territoriali che utilizzano apparecchiature dedicate al Sanger Sequencing,

Propone la seguente deliberazione

- 1) L'adozione dell'Allegato 1 avente per titolo "*Organizzazione della attività di Sanger Sequencing*" quale risultato del lavoro congiunto delle strutture coinvolte e facente parte integrata e sostanziale della presente delibera;
- 2) di attribuire alla Dr.ssa Alessia Franco, responsabile UOS "Diagnostica e caratterizzazione molecolare, Laboratorio di Riferimento Nazionale (NRL-AR) e Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza (CRN-AR)", presso la UOC DO Diagnostica Generale il coordinamento delle attività previste dal richiamato allegato ed in prima istanza di coordinarsi con le strutture coinvolte individuate nell'allegato 1 al capitolo *Organizzazione dell'attività di Sanger Sequencing*, al fine di indicare alla Direzione Sanitaria il personale da impiegare nell'attività. La lista degli operatori ed eventuali sue modifiche sarà ufficializzata con nota della stessa Direzione Sanitaria.

Il responsabile della
Direzione Operativa Diagnostica Generale
(Dott. Antonio Battisti)



Il Direttore Sanitario
(Dott. Andrea Leto)



IL DIRETTORE GENERALE

Oggetto: Organizzazione della attività di Sanger Sequencing.

VISTA la proposta di deliberazione avanzata dal Direttore Sanitario e dal responsabile della Direzione Operativa Diagnostica Generale n. 34/USD del 08/08/2019 avente ad oggetto: “Organizzazione della attività di Sanger Sequencing”;

SENTITO il Direttore Amministrativo che ha espresso parere favorevole alla adozione del presente provvedimento;

RITENUTO di doverla approvare così come proposta,

DELIBERA

per i motivi espressi in narrativa che costituiscono pertanto parte integrante e sostanziale del presente provvedimento:

- 1) l'adozione dell'Allegato 1 avente per titolo “*Organizzazione della attività di Sanger Sequencing*” quale risultato del lavoro congiunte delle strutture coinvolte e facente parte integrata e sostanziale della presente delibera;
- 2) di attribuire alla Dr.ssa Alessia Franco, responsabile UOS “Diagnostica e caratterizzazione molecolare, Laboratorio di Riferimento Nazionale (NRL-AR) e Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza (CRN-AR)”, presso la UOC DO Diagnostica Generale il coordinamento delle attività previste dal richiamato allegato ed in prima istanza di coordinarsi con le strutture coinvolte individuate nell'allegato 1 – *Organizzazione dell'attività di Sanger Sequencing*, al fine di indicare alla Direzione Sanitaria il personale da impiegare nell'attività; le liste degli operatori ed eventuali sue modifiche saranno ufficializzate con nota della stessa Direzione sanitaria.

IL DIRETTORE GENERALE

(Dott. Ugo della Marta)



Organizzazione delle attività di Sanger Sequencing

In seguito all'adozione del Regolamento per l'ordinamento interno dei Servizi dell'Istituto (Del. N. 3 del 10/01/2018), e con nuova Organizzazione dell'Ente, si rende necessaria la redistribuzione di alcune attività di laboratorio di secondo livello come quelle del "sequenziamento classico del DNA" o "Sanger Sequencing" presso la Sede Centrale.

La responsabilità dell'attività di Sanger Sequencing è affidata alla UOC DO Diagnostica Generale, e gestita attraverso la UOS Diagnostica e Caratterizzazione Molecolare, Laboratorio di Riferimento Nazionale (NRL-AR) e Centro di Referenza Nazionale per l'Antibiotico-resistenza (CRN-AR).

Nel corso di riunioni preliminari della Direzione Sanitaria con le Strutture della Sede Centrale coinvolte (di seguito "Strutture interessate": UOC DO Diagnostica Generale, UOC DO Virologia, UOSD Ricerca e Controllo degli Organismi Geneticamente Modificati, UOC DO Microbiologia degli Alimenti, US Ricerca e Innovazione) è stato concordato un modello organizzativo che prevede l'uso del sequenziatore ABI3500 (sequenziatore 8 capillari) in un'area di prova condivisa, impiegando, in particolare, personale proveniente dalle suddette strutture interessate al servizio.

Questo tipo di soluzione offre l'indubbio vantaggio di distribuire il carico di lavoro su diversi centri di responsabilità, evitando che l'attività di servizio gravi su di un'unica struttura. Essa consente inoltre l'introduzione di una modalità operativa che, se adottata, ridurrebbe allo stretto indispensabile la condivisione del personale:

tale modalità prevede che ciascuna struttura gestisca in proprio le fasi di marcatura e purificazione dei propri campioni da sequenziare, rimandando alla sola elettroforesi capillare (attività propriamente condotta sul sequenziatore) la condivisione del servizio.

A titolo di esempio e per una migliore comprensione delle fasi e della tempistica legate alla procedura per il sequenziamento del DNA, si riporta una stima dei tempi di lavoro (in assenza di automazione) per l'esame di otto campioni (sedici sequenze):

Fase 1: preparazione fogli di accettazione e di lavoro elettronici: **10-20 min** (opzionale)

Fase 2: reazione di marcatura: **40 min** (circa 3h e 20' compresi i tempi di amplificazione)

Fase 3: purificazione dei prodotti di marcatura **20 min** (1h compresi i tempi delle incubazioni)

Fase 4: allestimento sequenziatore otto capillari: **30 min** (1h e 30' fino a 3h e 30' compresi i tempi di corsa).

Con l'adozione delle due misure (condivisione dello strumento e autonomia gestionale delle fasi di marcatura e purificazione delle sequenze), ogni struttura sarà quindi impegnata nella gestione dei propri campioni per quanto riguarda le fasi dalla "1" alla "2".

Poiché le fasi "3" e "4" sono strettamente correlate tra di loro, si ritiene necessario che vengano eseguite in stretta collaborazione tra personale della struttura di origine e il personale dedicato che lavora alla fase 4 in quella sessione.

Programmazione e ordini reagenti e materiali di consumo

La DO Diagnostica Generale, UOS Diagnostica e Caratterizzazione molecolare, coordina l'attività di previsione di acquisto dei reagenti (Fasi 2-4). Ognuna delle Strutture interessate propone la previsione dei quantitativi dei reagenti delle Fasi 2-4, attraverso un file condiviso (gestibile ad esempio attraverso Cloud IZSLT) che costituirà previsione per l'anno successivo, e da inviarsi all'Uff. Acquisizione Beni e Servizi nei modi e tempi previsti per i materiali di consumo presso IZSLT, secondo le Procedure in vigore.

Collocazione del sequenziatore ABI3500 (Fase 4)

Lo strumento resterà collocato nell'area di prova 208 "Ingegneria Genetica". La soluzione non pone problemi di compatibilità tra le attività coesistenti nell'area di prova, per quanto riguarda i rischi di contaminazione da acidi nucleici.

Organizzazione dell'attività di Sanger Sequencing

Ogni Struttura interessata individua il personale deputato alle attività di Sequenziamento.

Per la specifica Fase 4 sono individuate le seguenti Strutture:

- DO Diagnostica Generale, UOS Diagnostica e Caratterizzazione Molecolare;
- DO Virologia;
- UOSD Organismi Geneticamente Modificati;
- DO Microbiologia degli Alimenti.

A supporto delle attività e per un contributo in situazioni di particolare esigenza, è individuato anche il personale dell'Ufficio di Staff Ricerca e Innovazione.

Il Personale individuato attenderà alla Fase 4, sulla base di turni concordati tra le Strutture interessate, in modo tale che circa il 40% del servizio verrà svolto da personale della DO

Diagnostica Generale, e l'altro 60% sarà suddiviso in egual misura tra le altre tre Strutture interessate.

Ognuna delle Strutture interessate e le Strutture "occasionalmente" che usufruiscono del servizio di Sanger Sequencing resta responsabile della valutazione dei parametri di qualità degli ampliconi da sottoporre a marcatura, purificazione e sequenziamento.

Gestione Inserimento Prove, esiti e restituzione dei risultati sequenziamento p. d. (Fase 4)

La prova di sequenziamento è registrata su Sistema Informativo di Laboratorio secondo modalità già consuete, attraverso un subcampionamento in Struttura.

L'emissione del RP su SIL ("Sequenziamento – DNA Rilevata Presenza"), come già attualmente in essere sarà a cura della Struttura che ha in carico la prova su SIL.

Il personale preposto alla Fase 4 restituisce le sequenze (elettroferogrammi) alle Strutture interessate in una sezione dedicata del "Cloud IZSLT". Le Strutture interessate provvedono in modo autonomo all'interpretazione delle stesse.

Le altre strutture dell'IZSLT non previste nel presente documento, perché usufruiscono del servizio in modo occasionale, richiedono alla DO Diagnostica Generale, UOS di Diagnostica e Caratterizzazione Molecolare il servizio di Sanger Sequencing per le Fasi 2-4 (e, qualora necessario, il servizio di editing delle Sequenze: ovvero "trasformare/tradurre" l'elettroferogramma in un file fasta con la sola stringa di basi nucleotidiche, da "analizzarsi" o "interpretarsi" da parte della struttura richiedente). Pertanto, per motivi organizzativi e di efficienza delle attività di servizio, potrà essere il personale di una delle Strutture di turno al sequenziatore ad evadere il servizio di sequenziamento (Fase 4) in carico ad altre Strutture interessate.

In linea generale, all'inizio della settimana (lunedì) il personale della Struttura di turno al sequenziatore riceve l'elenco delle sequenze da effettuarsi nella seduta settimanale. Qualora ci fossero esigenze diverse, durante la stessa settimana si potrà effettuare una seduta supplementare. Nella seduta supplementare si potranno gestire le sequenze tenendo conto di un ordine di priorità* definito con un *agreement* tra le Strutture interessate.

*Nota: l'ordine di priorità è legato a particolari realtà (ad es. ID di agenti per malattie soggette a Piani, o con tempi massimi di refertazione stabiliti per normativa etc., oppure situazioni di diagnostica di outbreaks etc.).

Formazione del Personale per le Fasi 1-4

Tutto il personale destinato all'esecuzione di almeno una delle Fasi 1-4 del Sanger Sequencing, sarà adeguatamente addestrato attraverso un programma di formazione relativo alle attività che dovrà svolgere. Tale formazione sarà intrapresa, completata e formalizzata anche attraverso quanto

previsto da PG FOD 001 e relativa modulistica. La formazione del personale destinato alle varie fasi sarà curata dalla sig.ra Raffaella Conti e dal sig. Maurizio Zini (personale impiegato finora nelle operazioni di Sanger Sequencing p. d. presso la Sede Centrale, e attualmente in forza rispettivamente alla DO Virologia e all'US Ricerca e Innovazione, in seguito a riorganizzazione dei servizi dell'Ente), con la supervisione del Dr. Raniero Lorenzetti (US Ricerca e Innovazione, IEP Innovazione e Tecnologie Biomediche).

La UOT Toscana Nord (sede di Pisa), e la UOT Lazio Nord (sede di Rieti), presso le quali sono in carico rispettivamente n. 1 ABI 310 (sequenziatore monocapillare) e n. 1 ABI 3130 (sequenziatore a 4 capillari), individueranno loro Unità di personale dedicato alle attività di sequenziamento per gli analoghi aspetti formativi e di armonizzazione, relativamente alle fasi di marcatura, purificazione e sequenziamento p. d. (Idoneità dell'amplicone alla fase di sequenziamento p. d.).

PUBBLICAZIONE

Copia della presente deliberazione è stata pubblicata ai sensi della L.69/2009 e successive modificazioni ed integrazioni in data *30/08/2019*

IL FUNZIONARIO INCARICATO
Sig.ra Eleonora Quagliarella

EQ

IL FUNZIONARIO INCARICATO
Dott.ssa Miriam Colantonio