



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Direzione Operativa Diagnostica Generale

Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza
National Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance (Reg. 882/2004/EC)

Roma, 22/03/2017

IZSLT

PROT_PROTOCOLLO GENERALE

Prot. 2-Partenza

Numero Protocollo. 0003938/17

All. Data Protocollo: 22/03/2017

Oggetto: Nota integrative per acquisto apparecchiatura di Next Generation Sequencing

Ad integrazione della relazione tecnica del 02/11/2016 (Prot. 3262/17), si riassumo i punti salienti che orientano la scelta dell'apparecchiatura per Next Generation Sequencing da acquisire:

La D. O. Diagnostica Generale, partecipa ad un Progetto Europeo finanziato dall' European Food Safety Authority (call GP/EFSA/AFSCO/2015/01), dal titolo "Establishing Next Generation sequencing Ability for Genomic analysis in Europe", acronimo ENGAGE. Ha esigenza di acquisire un'apparecchiatura di Next Generation Sequencing per adempiere alle fasi del Progetto in corso, che prevede sequenziamento di genomi di agenti batterici patogeni antibioticoresistenti.

Per le esigenze attuali della l'apparecchiatura di Next Generation Sequencing (NGS) da acquisire rientra nel segmento di produttività medio-piccolo. Esistono in pratica due differenti tecnologie di sequenziamento NGS utilizzate da strumenti nel segmento di produttività di interesse. La prima è la tecnologia Solexa, detta *Sequence by Synthesis chemistry* con lettura in fluorescenza, con apparecchiature prodotte e distribuite dalla Società Illumina; la seconda è la tecnologia Ion Torrent, con sequenziamento tramite "semiconduttori", con emissione di protoni, con apparecchiature prodotte distribuite dalla Società Life Technologies.

Nel settore della caratterizzazione molecolare di agenti patogeni che si serve di metodologie di sequenziamento del DNA (di geni, di elementi genetici, fino all'intero genoma) è indispensabile disporre della maggior accuratezza possibile del momento, specialmente in istituzioni come IZSLT, ente sanitario di diritto pubblico e "laboratorio multisito" accreditato che opera secondo Standard di Qualità ISO 17025. Attualmente, la tecnologia Solexa rappresenta il gold standard nel settore di interesse e degli scopi della Struttura (NGS/Whole Genome Sequencing di agenti patogeni). Infatti tale tecnologia in Europa è utilizzata nelle principali Istituzioni di Sanità Pubblica europea nel

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri" 1
Roma – Via Appia Nuova 1411 – 00178 – Tel. 06/79099.1 – Fax 06/79340724 – www.izslt.it - info@izslt.it

Posta Certificata: izslt@legalmail.it
P. IVA 00887091007 – C. F. 004224200588

settore della sorveglianza di agenti di malattie infettive (e antibioticoresistenza correlata). Inoltre è la tecnologia di utilizzo indicata da banche dati e repositories pubbliche di sequenze genetiche e di genomi determinati attraverso NGS, proprio in virtù dell'accuratezza di risultati prodotti (come ad esempio Enterobase <https://enterobase.warwick.ac.uk/>).

Il consorzio vincitore della call EFSA (consorzio ENGAGE) è composto da importanti istituzioni di Sanità Pubblica che già si servono di apparecchiature/tecnologia Solexa, come:

- Technical University of Denmark, DTU-Food, Center for Genomic Epidemiology ed European Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance (Project leader);
- Public Health England (Ente Governativo del Regno Unito nel settore della Salute umana);
- Animal and Plant Health Agency (Ente Governativo del Regno Unito nel settore della Sanità animale e dei vegetali);
- Federal Institute for Risk Assessment (BfR, Ente federale di Sicurezza degli Alimenti, Germania).

Confrontando le due tecnologie (Solexa vs Ion Torrent), la valutazione comparativa effettuata dalla scrivente Struttura è concorde con la preferenza di altre istituzioni del Consorzio ENGAGE nell'utilizzare apparecchiature/tecnologia Solexa (prodotta dalla società Illumina).

In particolare tale tecnologia, e l'apparecchiatura in cui è proposta, è superiore in:

- robustezza e facilità delle fasi di preparazione delle libraries;
- maggior accuratezza (*accuracy*) della fase di sequenziamento vero e proprio, con minori tassi di errore complessivi (*error rates*), inclusi i minori tassi di errori indel associati a presenza di omopolimeri, o quelli associati a contenuto G+C (Guanina + Citosina, ovvero due delle quattro basi azotate di cui è composto il DNA degli organismi viventi), come si evince da letteratura;
- costi complessivi della strumentazione necessaria alle operazioni di sequenziamento che garantiscano l'accuratezza complessiva richiesta.

Attualmente, le caratteristiche della tecnologia Ion Torrent non garantiscono livelli altrettanto elevati nei punti sopra richiamati, ed inoltre i risultati ottenuti con tale tecnologia non sarebbero direttamente confrontabili con quelli ottenuti da altri partners del consorzio ENGAGE. Ciò andrebbe a discapito del raggiungimento degli obiettivi progettuali.

Per tutte le ragioni suindicate, e per le esigenze di produttività attuali, la D. O. Diagnostica Generale chiede che venga acquisita apparecchiatura denominata MiSeq® System della ditta Illumina.

In fede

Il Responsabile della D. O. Diagnostica Generale

Dr. Antonio Battisti