

**ACCORDO DI COLLABORAZIONE PER IL POTENZIAMENTO DEL SISTEMA DI
SORVEGLIANZA SANITARIA, L'INTERCETTAZIONE DI NUOVE VARIANTI E IL
MONITORAGGIO DELLA DIFFUSIONE DEL VIRUS SARS-COV-2 SUL TERRITORIO
REGIONALE, AI SENSI DELL'ART. 8, COMMI 23 e ss. DELLA L.R. n. 13/2021**

TRA

Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia, in seguito denominata "**Regione**" con sede legale in Trieste (TS), Piazza Unità d'Italia n. 1, C.F. 80014930327, rappresentata dalla dott.ssa Gianna Zamaro, in qualità di Direttore centrale della Direzione centrale salute, politiche sociali e disabilità

E

Azienda Sanitaria Universitaria Giuliano Isontina (ASU GI) SC Igiene e Sanità Pubblica, in seguito denominata "**ASUGI**", con sede legale in Trieste (TS), 34128, via Costantino Costantinides, 2, C.F. e Partita IVA 01337320327, legalmente rappresentata dal dott. Antonio Poggiana, nella sua qualità di Direttore Generale dell'Azienda sanitaria universitaria Giuliano Isontina (ASU GI)

E

Istituto di Genomica Applicata, in seguito denominato "**IGA**", associazione senza scopo di lucro, dotata di personalità giuridica registrata presso la Prefettura di Udine, iscritta al REA n. UD-350782, con sede legale in Udine (UD), 33100, via Jacopo Linussio n. 51, C.F. 94098210308 - Partita IVA 02470980307, legalmente rappresentato dal Prof. Giuseppe Macino, nella sua qualità di Presidente

Premesso che

- La Regione autonoma Friuli Venezia Giulia persegue la tutela della salute pubblica, anche attraverso il monitoraggio della evoluzione epidemiologica e la sorveglianza sanitaria, in armonia con le proprie disposizioni statutarie, con la Costituzione, con i principi generali dell'ordinamento giuridico della Repubblica e con gli obblighi internazionali dello Stato, nonché nel rispetto degli interessi nazionali e di quelli delle altre Regioni, stante il protrarsi della situazione emergenziale, da ultimo prorogata al 31 dicembre 2021, con D.L. n. 105/2021 recante "*Misure urgenti per fronteggiare l'emergenza epidemiologica da COVID-19 e per l'esercizio in sicurezza di attività sociali ed economiche*";
- la Regione garantisce il perseguimento di detti obiettivi, nell'interesse della collettività e nel rispetto della dignità e della libertà della persona umana, attraverso il complesso di funzioni e attività assistenziali del Servizio sanitario regionale (di seguito anche "SSR") e, nello specifico, degli enti dotati di personalità giuridica di diritto pubblico di cui all'art. 3 della Legge regionale 17 dicembre 2018, n. 27 recante *l'Assetto istituzionale e organizzativo del Servizio sanitario regionale*, conformemente anche ai principi di cui al d.lgs. 502/1992;
- la Regione, ai fini della sorveglianza epidemiologica e virologica del SARS-CoV-2 per il periodo emergenziale necessita di un'intensa attività di sequenziamento di genomi virali per monitorare le

caratteristiche genetiche della popolazione virale, soprattutto in relazione all'insorgenza e alla diffusione di nuove varianti sul territorio regionale;

- la Regione, per l'espletamento delle proprie funzioni e di ogni attività connessa e per il perseguimento dei propri fini istituzionali, può stipulare convenzioni, accordi con soggetti pubblici o privati, nazionali ed internazionali, al verificarsi di determinate condizioni e nel rispetto della normativa nazionale ed europea;
- con specifico riferimento allo studio e ricerca nel campo della genomica, alla Circolare Min. Salute n. 3787 del 31/01/2021 in merito all'*aggiornamento sulla diffusione a livello globale delle nuove varianti di SARSCoV-2, valutazione del rischio e misure di controllo*, allegata alla nota del Direttore Centrale salute, politiche sociali e disabilità, ns prot. SPS-SANUMA-PRE-2021-3753 del 07/02/2021, è stata individuata ASUGI quale soggetto principale di interlocuzione costante e diretta, nella persona del Direttore presso SC (UCO) Igiene e Sanità Pubblica (funzione integrata con SC Microbiologia e Virologia) – ASUGI, riconoscendo detta struttura come Laboratorio Regionale di Riferimento, sulla base della professionalità specifica e della pregressa attività di referenza regionale per il monitoraggio del virus influenzale, per il monitoraggio delle varianti al fine di raccogliere e inviare campioni sulla base delle esigenze di sequenziamento settimanali nell'ambito del territorio regionale;
- a seguito della pandemia, ASUGI – quale Laboratorio Regionale di Riferimento – ha subito un sovraccarico di lavoro dovuto alla situazione emergenziale in atto e non ha a disposizione la struttura, in termini sia di attrezzatura sia di personale, in grado di assicurare il monitoraggio del flusso, nelle tempistiche e con i risultati che l'affiancamento di un ente di ricerca genomica specializzato potrebbe invece assicurare;
- l'attuale Laboratorio Regionale di Riferimento, pertanto, non è in grado di soddisfare le esigenze previste per le attività del piano di sorveglianza genomica per SARS-CoV-2 e, quindi, la collaborazione trilatera rappresenta lo strumento più idoneo a soddisfare le esigenze di sorveglianza sanitaria e salute pubblica della Regione;
- si ritiene, dunque, necessario l'impiego di un ente dotato della struttura idonea a garantire un monitoraggio dinamico e capillare dell'evoluzione epidemica regionale, per le tempistiche (stimate in circa 4-5 giorni), per le competenze specialistiche richieste dalla procedura di sequenziamento, per le tecnologie di laboratorio, per gli obiettivi e per il numero atteso complessivo dei campioni da sequenziare secondo il programma di monitoraggio settimanale delle varianti;
- per la peculiarità dell'attività oggetto del presente Accordo e dei campioni da sequenziare nell'ambito della medesima, è necessario individuare un ente che disponga di almeno una sede operativa collocata in un'area territoriale che consenta ad ASUGI un'agevole operatività in merito alle consegne dei campioni stessi, raccolti presso le aziende del SSR;
- con Generalità n. 403 del 12 marzo 2021, la Giunta Regionale ha unanimemente concordato sull'opportunità di sviluppare collaborazioni fra la Regione e le istituzioni nell'ambito della genomica, ai fini della sorveglianza epidemiologica e virologica del SARS-CoV2, *“per monitorare le caratteristiche genetiche della popolazione virale, soprattutto in relazione all'insorgenza e diffusione di nuove varianti”*;
- la richiamata Generalità ha rilevato che, per il perseguimento di tali finalità, *“l'Istituto di Genomica*

Applicata (IGA), associazione con personalità giuridica riconosciuta che ha per scopo esclusivo lo svolgimento e la promozione della ricerca scientifica nel campo della genomica e delle sue applicazioni, possiede un laboratorio di sequenziamento e ri-sequenziamento altamente specializzato e ha sviluppato know how e tecnologia utile per il sequenziamento e analisi bioinformatica dei genomi di SARS-Cov2 tramite la tecnologia Illumina, disponendo di un parco sequenziatori ampio e flessibile.”;

- IGA, associazione senza scopo di lucro, apolitica e apartitica, si caratterizza per la esclusiva combinazione sul territorio della Regione Friuli Venezia Giulia, di capacità tecnica e professionale, che si estrinseca sia nella presenza di macchinari specialistici sia nelle competenze professionali necessarie a utilizzarli, al fine del migliore ottenimento dei risultati di laboratorio, relativamente allo studio specifico dell'intero genoma;
- IGA svolge parte delle sue attività di ricerca genomica nell'ambito delle attività della Piattaforma Tecnologica di Genomica ed Epigenomica realizzata attraverso l'integrazione e la messa a sistema delle risorse umane e strumentali di IGA e di Area Science Park come da accordo di collaborazione esistente fra le due parti;
- in considerazione di quanto sopra, la Regione intende avvalersi dell'*expertise* di IGA al fine di acquisire ulteriori e tempestive informazioni sulle caratteristiche genetiche della popolazione virale presente sul territorio regionale;
- la L.R. n. 13/2021, recante "*Assestamento del bilancio per gli anni 2021-2023, ai sensi dell'articolo 6 della legge regionale 10 novembre 2015, n. 26*" e, in particolare, l'art. 8, commi 23 e ss., prevede che l'Amministrazione regionale è autorizzata a individuare un ente, senza scopo di lucro, altamente specializzato nella ricerca scientifica nel campo della genomica, e dotato di esclusivi *know how* e tecnologie per il sequenziamento e l'analisi bioinformatica dei genomi del SARS-CoV-2;
- il presente Accordo trova copertura finanziaria ai sensi dell'art. 8, comma 25, della L.R. n. 13/2021, il quale destina, per le finalità di cui sopra, la spesa complessiva di euro 500.000,00, suddivisa in ragione di euro 200.000,00 per ciascuno degli anni 2021 e 2022 e di euro 100.000,00 per l'anno 2023 a valere sulla Missione n. 13 (*Tutela della salute*) - Programma n. 7 (*Ulteriori spese in materia sanitaria*) - Titolo n. 1 (*Spese correnti*) – Macroaggregato n. 4 (*Trasferimenti correnti*) – Capitolo n. 12086, art. 1 dello stato di previsione della spesa di bilancio pluriennale per gli anni 2021-2023.

Tutto ciò premesso, interamente richiamato e ritenuto parte integrante del presente Accordo

si conviene e si stipula quanto segue:

Art. 1

Oggetto e scopo dell'Accordo

1. Oggetto del presente accordo sono le attività di ricerca che IGA fornirà alla Regione per il sequenziamento, tramite tecnologie di Next Generation Sequencing (di seguito "NGS"), di genomi virali di SARS-CoV-2, a partire da estratti di acidi nucleici ottenuti da pazienti positivi ad infezione Covid.

Art. 2
Attività IGA

1. È previsto a carico di IGA lo svolgimento delle attività di ricerca di seguito indicate:
 - a. preparazione di librerie per sequenziamento NGS;
 - b. sequenziamento NGS con tecnologia Illumina;
 - c. analisi bioinformatiche delle sequenze per ottenere la sequenza consenso del genoma virale per ogni campione;
 - d. individuazione e caratterizzazione delle principali varianti circolanti in Regione, senza limitarsi alle varianti che chiaramente destano preoccupazione per la salute pubblica (Variant Of Concern, VOC), perché presentano mutazioni che possono conferire al virus SARS-CoV-2 un'augmentata capacità diffusiva, così come la potenziale resistenza a trattamenti terapeutici (es. anticorpi monoclonali) e la capacità di eludere la risposta protettiva evocata dalla vaccinazione, né limitarsi alle varianti di interesse (Variant Of Interest, VOI) che, per proprietà genetiche, evidenza epidemiologica o in-vitro, potrebbero avere un impatto simile alle VOC per le quali, tuttavia, l'evidenza è ancora preliminare, anche individuando varianti diverse ancorché degne di monitoraggio, in quanto possibile e ulteriore fonte di diffusione;
 - e. predisposizione di una relazione tecnica sulle attività svolte e relativi risultati con cadenza bimestrale.

Art. 3
Attività ASUGI

1. È previsto a carico di ASUGI lo svolgimento delle attività di seguito indicate:
 - a. attività di coordinamento e raccordo fra le aziende sanitarie regionali, in qualità di Laboratorio Regionale di Riferimento per il monitoraggio delle varianti al fine di raccogliere e inviare campioni sulla base delle esigenze di sequenziamento settimanali nell'ambito del territorio regionale;
 - b. anonimizzazione dei campioni e parziale attività di sequenziamento, analogamente alle attività svolte da IGA, in modo da garantire le esigenze e la continuità delle attività di sequenziamento;
 - c. trasporto dei campioni raccolti dalle aziende sanitarie regionali a IGA per le attività di sequenziamento e ricerca delle varianti di cui al precedente art. 2;
 - d. analisi dei risultati ottenuti a seguito delle attività di cui al presente Accordo, per i fini di sorveglianza sanitaria ivi previsti.
2. Le attività di cui sopra rientrano nell'attività svolta da ASUGI nell'ambito del SSR, per le quale non è previsto alcun rimborso nell'ambito del presente Accordo.

Art. 4
Modalità di attuazione

1. La Regione e ASUGI, con il supporto e la collaborazione di IGA, realizzeranno le attività di sorveglianza sanitaria e monitoraggio epidemiologico facendo riferimento alle rispettive unità di

personale di ruolo, a tempo determinato e indeterminato, coinvolte nelle attività oggetto del presente accordo, che verranno chiamate a collaborare dai Responsabili Scientifici individuati al successivo art. 6, nonché alle proprie dotazioni strumentali.

2. Le modalità di svolgimento delle attività di sorveglianza sanitaria sono descritte nell'Allegato Tecnico *sub* "**Allegato A**", facente parte integrante del presente Accordo.
3. In ogni caso, ognuna delle Parti provvederà, in base alla legislazione vigente, alla formazione ed informazione delle unità di personale che frequenteranno le rispettive sedi sulle procedure interne e sugli eventuali rischi specifici. Resta salvo quanto disposto dall'art. 3, 6 comma, D. Lgs. n. 81/2008.

Art. 5 Durata

1. L'Accordo ha una durata massima di 24 (ventiquattro) mesi, eventualmente prorogabile, legata al permanere delle esigenze derivanti dalla situazione epidemiologica, anche non emergenziale, e comunque nel limite massimo della copertura finanziaria prevista.

Art. 6 Responsabili Scientifici

1. Il responsabile scientifico chiamato a coordinare le attività è individuato per la Regione nella persona del prof. Fabio Barbone, per ASUGI nella persona del prof. Pierlanfranco D'Agaro, per IGA nella persona del Direttore scientifico Prof. Michele Morgante.

Art. 7 Partecipazione finanziaria della Regione

1. La Regione destina le risorse necessarie alla realizzazione delle iniziative ricomprese nell'ambito del presente Accordo a copertura dei costi come *infra* meglio individuati, per un importo complessivo pari a euro 500.000,00 suddivisa in ragione di euro 200.000,00 per ciascuno degli anni 2021 e 2022 e di euro 100.000,00 per l'anno 2023 a valere sulla Missione n. 13 (*Tutela della salute*) – Programma n. 7 (*Ulteriori spese in materia sanitaria*) – Titolo n. 1 (*Spese correnti*) – Macroaggregato n. 4 (*Trasferimenti correnti*) – Capitolo n. 12086, art. 1 dello stato di previsione della spesa di bilancio pluriennale per gli anni 2021-2023.
2. La quota annuale di finanziamento è trasferita ad ASUGI, in qualità di capofila delle attività, in via anticipata in un'unica soluzione.
3. Ai sensi dell'art. 8, comma 24, della L.R. n. 13/2021, la Regione riconosce alle parti coinvolte il rimborso dei costi diretti sostenuti per lo svolgimento delle attività di sequenziamento e correlate, a integrale copertura e non avente natura di corrispettivo.
4. L'importo a copertura dei costi diretti sarà erogato dalla Regione ad ASUGI la quale provvederà, in qualità di Laboratorio Regionale di Riferimento, a erogare il rimborso delle spese effettivamente sostenute a IGA, sul conto corrente intestato a quest'ultima, con cadenza bimestrale. La liquidazione avverrà, previa presentazione da parte di IGA, da trasmettere via pec ad ASUGI, di una relazione tecnica sulle attività svolte previste dall'art. 2, comma 1, lett. e) del presente Accordo nel bimestre di riferimento; ai fini della quantificazione del rimborso tale

relazione dovrà riportare altresì l'indicazione del numero e della tipologia dei campioni sequenziati.

5. ASUGI corrisponde a IGA un importo, a titolo di rimborso, a copertura di tutti i costi diretti sostenuti per le risorse umane e strumentali, ivi compresi prodotti di consumo, quali a titolo esemplificativo e non esaustivo, reagenti ecc., necessari allo svolgimento delle attività di sorveglianza sanitaria di cui al presente Accordo, commisurato al numero di campioni di acidi nucleici sequenziati, individuato in euro 80 (ottanta) per campione, per spedizioni di 48 campioni o multipli.
6. In conformità con quanto previsto dall'art. 8, comma 24, della L.R. n. 13/2021, il rendiconto dei costi diretti sostenuti da tutti i soggetti coinvolti per l'attività di rafforzamento della sorveglianza al virus SARS-CoV-2 è presentato da ASUGI alla Regione, secondo le modalità e i termini di presentazione della rendicontazione stabiliti nel decreto di erogazione.

Art. 8

Riservatezza delle informazioni e proprietà dei risultati

1. IGA e ASUGI si impegnano a garantire la riservatezza su ogni informazione derivante dal presente Accordo.
2. I risultati ottenuti nell'ambito delle finalità e applicazioni di cui al presente Accordo sono di proprietà esclusiva della Regione e, fatto salvo il caso della rendicontazione ministeriale dovuta che prevede il deposito delle sequenze nelle piattaforme I-CO-GEN dell'Istituto Superiore di Sanità e nella piattaforma internazionale GISAID, in nessun caso IGA o ASUGI potranno cedere i risultati a terzi, se non previa espressa autorizzazione della Regione.
3. Parimenti, è fatto divieto di brevettare qualsivoglia contenuto derivante dal presente Accordo nonché di cedere la proprietà o i diritti brevettuali connessi, intesi tutti i diritti e gli oneri che ne conseguono, a qualsiasi titolo e per qualsivoglia motivo.
4. Ogni produzione, atto e documento, anche di interesse scientifico, avente valenza di ricerca, derivanti dalle attività di cui al presente Accordo, sono di proprietà della Regione e a nessun titolo possono essere divulgati o pubblicati, se non previa espressa autorizzazione della Regione medesima che si riserva ogni e più ampio facoltà decisionale in merito, nel contemperamento delle superiori esigenze di sanità pubblica e di gestione epidemiologica, anche non emergenziale.

Art. 9

Tutela dei dati personali

1. La Regione non dispone dei dati sanitari degli interessati nell'ambito della gestione della situazione pandemica, anche non emergenziale.
2. Nell'ambito delle attività di coordinamento fra le Aziende sanitarie e di raccolta dati, nonché delle attività correlate, come indicate all'art. 3 del presente Accordo, ASUGI provvede a trasmettere i dati a IGA in forma transcodificata e provvede ad anonimizzare i campioni raccolti, ove non siano già acquisiti come tali. Resta fermo che, in nessun caso, IGA può risalire dal dato in proprio possesso al soggetto interessato.
3. Il Titolare del trattamento dei dati personali è ASUGI.

4. ASUGI e IGA, con atto separato, provvedono a individuare e nominare il Responsabile della Protezione dei Dati (RPD) ex art. 37 Reg. Ue 2016/679.
5. Le parti del presente Accordo assicurano l'attuazione del principio della minimizzazione nell'utilizzo dei dati ossia saranno trattati quelli adeguati, pertinenti e necessari al raggiungimento delle finalità del presente Accordo.
6. È, in ogni caso, assicurata la più ampia informazione ai fini della tutela della riservatezza delle informazioni nei riguardi delle persone che, a vario titolo, partecipano al progetto e non sono tenute in forma di leggi o regolamento al segreto professionale.
7. Il trattamento dei dati dovrà avvenire legittimamente, con correttezza e trasparenza nei confronti dell'interessato.
8. La base giuridica che rende legittimo il trattamento, ossia i motivi di legittimazione al trattamento sono rappresentati da: a) interesse pubblico nel settore della sanità pubblica; b) perseguimento dei fini di archiviazione nel pubblico interesse; c) ricerca scientifica o storica o a fini statistici; d) motivi di interesse pubblico rilevante sulla base del diritto dell'Unione o degli Stati membri; e) consenso dell'interessato.
9. Il trattamento dei dati riguarda il sequenziamento massivo dei campioni con diagnosi molecolare positiva per SARS-CoV-2, al fine di individuare tempestivamente potenziali varianti del virus, note e non, e contenerne la diffusione nella popolazione e trattamenti collegati da individuarsi separatamente.
10. I dati personali saranno trattati nei limiti delle finalità di cui al presente Accordo, ovvero per altre finalità affini o simili non incompatibili con le finalità che sono state la causa della raccolta dei dati personali, e nel rispetto delle disposizioni normative previste dal Reg. UE 2016/679 nonché dal d.lgs. 196/2003 e smi.
11. I dati saranno conservati per il tempo strettamente necessario allo scopo e/o per i casi di eventuale riuso di essi in progetti/studi/protocolli affini, simili e comunque non incompatibili con le ragioni della raccolta.
12. I dati personali saranno trattati secondo misure adeguate di protezione sia in fase di raccolta che di utilizzo e trasmissione degli stessi, conformemente a quanto previsto dall'art. 32 Reg. Ue 2016/679.

Art. 10 Recesso

1. Ad ognuna delle Parti del presente accordo, ai sensi dell'art.1373 c.c., è attribuita la facoltà di recedere e tale facoltà può essere esercitata finché l'accordo stesso non abbia avuto un principio di esecuzione.

Art. 11 Risoluzione

1. Il presente Accordo può essere risolto in ogni momento qualora una delle Parti dichiari l'impossibilità, per causa ad essa non imputabile, di proseguire la collaborazione, fatti salvi i diritti *medio tempore* acquisiti.

2. La Regione ha, in ogni tempo, facoltà di recedere senza preavviso ove le Parti non rispettino le tempistiche e le modalità delle attività finalizzate al monitoraggio e alla sorveglianza sanitaria.

Art. 12
Modifiche dell'accordo

1. Il presente Accordo può essere modificato, previo accordo sottoscritto da tutte le Parti.
2. È fatto espresso divieto di cedere in tutto o in parte l'esecuzione delle attività previste dal presente Accordo a soggetti esterni o anche ad organismi collegati o controllati, senza preventiva autorizzazione scritta della Regione, a seguito di motivata richiesta.

Art. 13
Foro competente

1. Per ogni qualsivoglia controversia, il Foro di Trieste è competente in via esclusiva.

Art. 14
Oneri fiscali

1. Il presente Accordo è soggetto al pagamento dell'imposta di bollo per i rapporti concernenti IGA i cui oneri sono a carico della medesima.
2. Qualunque spesa, imposta e tassa e qualsivoglia onere fiscale derivante dal presente Accordo è a carico di IGA.
3. Il presente Accordo sarà registrato in caso d'uso. Le spese dell'eventuale registrazione sono a carico della parte che la richiede.

Art. 15
Norme di rinvio

Per quanto non previsto dal presente Accordo si applicano le disposizioni di legge applicabili in materia.

Il presente Accordo si compone di 15 articoli.

Letto, approvato e sottoscritto digitalmente,

Il Direttore centrale
Direzione Centrale Salute, Politiche Sociali
e Disabilità
Dott.ssa Gianna Zamaro

Il Presidente
dell'Istituto di Genomica Applicata
Prof. Giuseppe Macino

Il Direttore
Azienda Sanitaria Universitaria
Giuliano Isontina
Dott. Antonio Poggiana

Documento informatico redatto e sottoscritto digitalmente ai sensi degli artt. 20 e 21 del D.lgs. 82/2005 (Codice dell'amministrazione digitale) con le modifiche apportate, da ultimo, dal D.L. 30 dicembre 2019, n. 162.

ALLEGATO A

Allegato Tecnico

Obiettivo primario è la sorveglianza genomica del virus sul territorio della Regione autonoma Friuli Venezia Giulia, attraverso il sequenziamento massivo dei campioni con diagnosi molecolare positiva per SARS-CoV-2, al fine di individuare tempestivamente potenziali varianti del virus, note e non, e contenerne la diffusione nella popolazione. La collaborazione tra Istituto di Genomica Applicata (IGA), Azienda Sanitaria Universitaria Giuliano Isontina (ASUGI) SC Igiene e Sanità Pubblica e Regione Friuli Venezia Giulia - Direzione Salute, Prevenzione - Task force regionale Covid definisce la rete in cui implementare il piano di sorveglianza genomica per SARS-CoV-2, offrendo un monitoraggio dinamico e capillare dell'evoluzione epidemica regionale. Ciascun centro ha un ruolo fondamentale nel fronteggiare l'emergenza da Covid-19, supportando il territorio regionale e mettendo a disposizione le proprie competenze tecnico-scientifiche ed expertise in differenti campi specifici, dall'epidemiologia e diagnostica molecolare, alla genomica e bioinformatica.

Il piano di sorveglianza genomica del virus SARS-CoV-2 proposto per la Regione Friuli Venezia Giulia prevede il sequenziamento tramite NGS (*Next Generation Sequencing*) di campioni positivi per diagnosi molecolare in Real-Time PCR (RT-PCR), provenienti da tutto il territorio regionale e selezionati sulla base di un razionale scientifico ed epidemiologico. Il piano si svilupperà secondo le procedure operative dettagliate di seguito.

1. Selezione del campione

Tutti i tamponi naso-faringei con diagnosi molecolare di positività per SARS-CoV-2 (ottenuta tramite RT-PCR) provenienti da ciascun laboratorio della Regione Friuli Venezia Giulia, in sinergia fra i centri ASUGI e Task Force Covid verranno selezionati per il successivo sequenziamento del genoma virale secondo i criteri congiuntamente definiti. ASUGI predisporrà l'invio a IGA con cadenza settimanale di un'aliquota di almeno 30 ul degli estratti di acidi nucleici ottenuti per il test diagnostico per ciascuno dei campioni selezionati. Gli estratti verranno organizzati in piastre da 96 pozzetti con allegato un file formato .csv o .xlsx in cui sia descritto identificativo univoco del campione e Ct value del test in Real Time PCR. Verranno scelti per il sequenziamento campioni con Ct values inferiori a 30.

2. Sequenziamento genoma SARS-CoV-2 tramite NGS

IGA procederà al sequenziamento massivo parallelo secondo protocolli basati su amplificazione in PCR di ampliconi, che permettono di ottenere librerie dotate di allineamento specifico per i target di interesse, oltre che elevata uniformità nella copertura del genoma. I protocolli saranno selezionati sulla

base di quanto proposto dal continuo aggiornamento fornito dalla comunità scientifica e dal mercato tecnologico e si baseranno su sequenziamento tramite tecnologia Illumina su sequenziatori NovaSeq e NextSeq per IGA e tecnologia Ion Torrent con sequenziatore Ion GeneStudio S5 plus per ASUGI. Le reads prodotte verranno successivamente analizzate con metodi bioinformatici standard, secondo lo stato dell'arte. Tutte le analisi comportano il controllo di qualità e rimozione degli adattatori, il mappaggio e la chiamata delle varianti rispetto al genoma di riferimento Wuhan-Hu-1 (Genbank: NC_045512.2). Ogni analisi, oltre a ricostruire la sequenza del genoma (laddove possibile) sarà corredata di informazioni accessorie (metadati) che consentiranno di determinarne in maniera semplice e rapida la "qualità" e l'affidabilità del risultato finale. Verranno considerati completi i soli genomi che contengano almeno il 95% della sequenza genomica virale con copertura superiore a 10X. La definizione del clade o del lignaggio dei virus sequenziati verrà effettuata utilizzando Nextstrain (<https://nextstrain.org/sars-cov-2/>), Pangolin (<https://cov-lineages.org/pangolin>) (10), mentre le nuove varianti rispetto a quelle già identificate da ECDC e WHO negli aggiornamenti periodici, verranno valutate per la presenza di mutazioni puntiformi, inserzioni o delezioni nelle sequenze genomiche prodotte. Le sequenze consensus ottenute saranno depositate nei database pubblici di settore quali GISAID EpiCov (<https://www.gisaid.org>) e I-CO-GEN su piattaforma IRIDA-ARIES dell'Istituto Superiore di Sanità. Oltre a ricostruire sequenze genomiche complete, le analisi effettuate consentiranno di studiare la prevalenza di diverse mutazioni nel genoma virale, nel tempo e in diverse aree geografiche della regione oltre che confrontando con altri Paesi. A questo fine, laddove una sufficiente copertura del sequenziamento sia osservata per specifiche regioni del genoma, potranno essere utilizzati anche i sequenziamenti "incompleti", per cui non si è stati in grado di ricostruire almeno il 95% della sequenza genomica. Questi dati verranno incorporati in un banca dati di frequenza alleliche aggregate, che risulterà utile per seguire la prevalenza delle singole mutazioni e l'individuazione di cluster di rilevanza epidemiologica. IGA renderà disponibili a ASUGI e TaskForce Covid un foglio Excel contenente per ciascun campione la descrizione delle mutazioni identificate rispetto al genoma di riferimento Wuhan-Hu-1 con l'indicazione degli effetti a livello di struttura primaria delle proteine virali qualora la mutazione avvenga in una regione codificante e l'assegnazione al lignaggio secondo la classificazione Pangolin. IGA renderà anche disponibili a ASUGI tramite apposito sito accessibile con protocollo SFTP ad accesso controllato per ciascun campione analizzato le sequenze grezze in formato FastQ, i file vcf con le chiamate SNP, i plot di copertura, e le sequenze consensus.

IL PRESIDENTE

IL SEGRETARIO GENERALE