



REGIONE DEL VENETO

giunta regionale

Data **06 LUG. 2021** Protocollo N° **304579** Class: **G. PROD.** | Prat. Fasc. Allegati N° 1

Oggetto: Procedura Regionale - Attività della rete regionale di laboratori per il sequenziamento genetico di SARS-CoV-2

Alla c.a.
Direttori Generali
Direttori Sanitari
Direttori U.O. Microbiologia
Aziende ULSS e Aziende Ospedaliere
Istituto Oncologico Veneto

Direttori Dipartimenti di Prevenzione
Direttori Servizi Igiene e Sanità Pubblica
Referenti Contact Tracing
Referenti sorveglianza Varianti SARS-CoV-2
Aziende ULSS

Direttore Generale
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

E p.c.
Direttore Generale Area Sanità e Sociale
Direttore Direzione Programmazione
Direttore Generale Azienda Zero

L'insorgenza e la diffusione di nuove varianti VOC (Variant Of Concern), potenzialmente più trasmissibili o capaci di causare forme più gravi di malattia o di sfuggire a immunità naturale o indotta da vaccino, richiede un rafforzamento delle misure di sorveglianza al fine di contrastarne efficacemente la propagazione e la circolazione. In particolare si rende necessario il potenziamento della sorveglianza di laboratorio attraverso un tempestivo sequenziamento dell'intero genoma SARS-CoV-2, o almeno del gene S, realizzando ove necessario anche indagini rapide di prevalenza per stimarne correttamente la diffusione e disporre opportune misure di contenimento nelle aree più colpite, anche a livello comunale.

In quest'ottica la Regione del Veneto con DGR 805/2021 ha definito un rafforzamento della Rete di laboratori coinvolti nelle attività di sequenziamento genomico di SARS-CoV-2:

- **l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe)** garantisce un'attività di coordinamento delle Rete regionale di sequenziamento al fine di fornire informazioni sull'evoluzione di SARS-Cov-2 e per identificare nuove varianti nel territorio regionale;
- **la Rete dei laboratori di Microbiologia delle Aziende Sanitarie**, con il supporto formativo dell'IZSVe, viene progressivamente coinvolta al fine di ampliare ulteriormente la capacità regionale di sequenziamento.

Per rafforzare la rete, che richiede l'integrazione tra Laboratori e Dipartimenti di Prevenzione, è stata redatta una procedura (Allegato) che ha l'obiettivo di uniformare attività e modalità operative sul territorio

Area Sanità e Sociale
Direzione Prevenzione, Sicurezza Alimentare, Veterinaria
Palazzo Ex-Inam, Dorsoduro, 3493 - 30123 Venezia (VE) – tel. 0412791352 – 1353 - 1320 - fax. 041-2791355
prevenzionealimentareveterinaria@regione.veneto.it
area.sanitasociale@pec.regione.veneto.it



REGIONE DEL VENETO

giunta regionale

regionale, precisando il coinvolgimento delle diverse UO di microbiologia per le finalità di contact tracing e di sorveglianza epidemiologica.

Tale procedura, in considerazione della progressiva attivazione di altre UO di microbiologia e dell'evoluzione dello scenario epidemiologico sarà aggiornata nel tempo.

Con l'occasione si porgono distinti saluti.

DIREZIONE PREVENZIONE, SICUREZZA
ALIMENTARE, VETERINARIA

Il Direttore
dr.ssa *Francesca Russo*

Referente dell'istruttoria: Michele Tonon / Francesca Zanella

Area Sanità e Sociale

Direzione Prevenzione, Sicurezza Alimentare, Veterinaria

Palazzo Ex-Inam, Dorsoduro, 3493 - 30123 Venezia (VE) – tel. 0412791352 – 1353 - 1320 - fax. 041-2791355

prevenzionealimentareveterinaria@regione.veneto.it

area.sanitasociale@pec.regione.veneto.it



EMERGENZA COVID-19

Sorveglianza varianti di SARS-CoV-2

PROCEDURA REGIONALE

Attività della rete regionale di laboratori per il sequenziamento genetico di SARS-CoV-2

Luglio 2021

PREMESSA

L'insorgenza e la diffusione di nuove varianti VOC (Variant Of Concern), potenzialmente più trasmissibili o capaci di causare forme più gravi di malattia o di sfuggire a immunità naturale o indotta da vaccino, richiede un rafforzamento delle misure di sorveglianza al fine di contrastarne efficacemente la propagazione e la circolazione. In particolare si rende necessario il potenziamento della sorveglianza di laboratorio attraverso un tempestivo sequenziamento dell'intero genoma SARS-CoV-2, o almeno del gene S, realizzando ove necessario anche indagini rapide di prevalenza per stimarne correttamente la diffusione e disporre opportune misure di contenimento nelle aree più colpite, anche a livello comunale.

In quest'ottica la Regione del Veneto con DGR 805/2021 ha definito un rafforzamento delle risorse attraverso un potenziamento della Rete di laboratori coinvolti nelle attività di sequenziamento genomico di SARS-CoV-2.

L'Istituto Zooprofilattico delle Venezie garantisce un'attività di coordinamento delle Rete regionale di sequenziamento al fine di fornire informazioni sull'evoluzione di SARS-Cov-2 e per identificare nuove varianti nel territorio regionale. La Rete dei laboratori di Microbiologia, con il supporto formativo dell'IZSVe, viene progressivamente coinvolta al fine di ampliare ulteriormente la capacità regionale di sequenziamento.

Versione:

Rev. Luglio 2021

Regione del Veneto

Direzione Prevenzione, Sicurezza alimentare, Veterinaria

Il presente documento è stato redatto a cura della

Direzione Prevenzione, Sicurezza alimentare, Veterinaria e del Coordinamento della Rete delle Microbiologie della Regione del Veneto e del Laboratorio di Referenza Regionale per il Sequenziamento SARS-CoV-2 dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.

1. OBIETTIVO

Lo scopo del presente documento è fornire alle strutture del Sistema Sanitario Regionale indicazioni tecnico-procedurali per la gestione omogenea ed appropriata nel territorio regionale delle attività di sequenziamento genetico di SARS-CoV-2, come definito dalla DGR 805/2021. Si evidenziano in particolare i principali due obiettivi specifici:

1. **identificare rapidamente le possibili varianti di SARS-CoV-2** al fine di consentire alle Centrali Operative di Contact Tracing dei SISP di riferimento territoriale di attivare tutte le necessarie azioni di sanità pubblica;
2. **rafforzare il monitoraggio e la sorveglianza epidemiologica** ampliando il numero di genomi analizzati al fine di studiare le dinamiche evolutive dimostrate dal virus e condividere le informazioni genetiche virali in database istituzionali nazionali (ITALIAN-COVID19-GENOMIC, I-Co-Gen sviluppata dall'ISS ed attiva dal 29 aprile 2021) e/o pubblici (GISAID).

2. DEFINIZIONI

Sequenziamento genetico SANGER: metodica enzimatica che si basa sull'utilizzo di nucleotidi modificati per interrompere la reazione di sintesi in posizioni specifiche (*metodo della terminazione della catena*).

Sequenziamento genetico mediante approccio Next Generation Sequencing (NGS): l'insieme delle tecnologie di sequenziamento degli acidi nucleici che hanno in comune la capacità di sequenziare, in parallelo, milioni di frammenti di DNA.

3. MODALITÀ OPERATIVE

La programmazione regionale prevede che i laboratori di Microbiologia delle Aziende Sanitarie, coinvolti nelle attività di sequenziamento, possano garantire il sequenziamento rapido per fornire ai Servizi di Igiene e Sanità Pubblica le risposte nei tempi adeguati per la presa in carico tempestiva dei casi positivi e la conseguente attività di indagine epidemiologica. L'attività di sequenziamento completo sarà invece garantita dall'IZSve con il graduale coinvolgimento di alcuni laboratori di Microbiologia specificamente identificati (Allegato 1).

Pertanto, al fine di ottimizzare e potenziare le attività di sequenziamento di SARS-CoV-2, risulta strategico incrementare il numero di laboratori coinvolti nell'attività di caratterizzazione genetica a livello regionale e attivare due flussi di caratterizzazione paralleli:

1. Sequenziamento parziale del gene S per l'identificazione in tempi rapidi di varianti virali già note: tale attività dovrà essere destinata esclusivamente a campioni segnalati dal SISP come urgenti per le necessarie azioni di *contact tracing*.
2. Sequenziamento del genoma completo mediante Next Generation Sequencing (NGS) per il monitoraggio puntuale delle varianti note e l'identificazione di quelle emergenti.

3.1 Rete di laboratori per il sequenziamento genetico SANGER di SARS-CoV-2

L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSve), sede del Laboratorio di Referenza Regionale per il Sequenziamento SARS-CoV-2 (LRRS), sarà affiancato nelle attività di screening genetico rapido, mediante sequenziamento parziale del gene S con metodica SANGER, da più laboratori a cui saranno inviati i campioni dalle varie ULSS come da elenco sottostante (Tabella).

Laboratorio	ULSS richiedenti	Referenti e Contatto
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie	ULSS 1, ULSS 2, ULSS 5, ULSS 7, ULSS 8	Isabella Monne, Alice Fusaro seq-hcov-19@izsvenezie.it
Azienda Ospedale Università di Padova, Microbiologia e Virologia	ULSS 6, ULSS 9	Elisa Franchin, Dal Bello Federico elisa.franchin@unipd.it federico.dalbello@aopd.veneto.it
Dipartimento di DMPO, UOSD Genetica, Citogenetica e Diagnostica Molecolare, Ospedale dell'Angelo	ULSS 3, ULSS 4	Elisa Squarcina, Mosè Favarato sai_elisa.squarcina@aulss3.veneto.it

Aggiornamento al 5.7.2021

Nell'attuale scenario epidemiologico di bassa incidenza è **previsto un sequenziamento di tutti i campioni positivi riferiti al caso indice del focolaio**, con test molecolare con CT inferiori o uguali a 25 (la metodica SANGER può essere applicata solo a tali campioni).

Nonostante, nell'attuale scenario, sia opportuno garantire **il sequenziamento sul maggior numero di campioni positivi**, il laboratorio effettuerà il sequenziamento virale in considerazione dell'urgenza e della disponibilità/capacità del laboratorio stesso. Nello specifico risulteranno **più urgenti le richieste di campioni positivi legati ai contesti definiti dalla Circolare del Ministero della Salute¹ non connessi con un caso da variante già identificato**. L'urgenza deve essere segnalata dal SISP al laboratorio al momento della richiesta.

Le ULSS richiedenti sono tenute ad inviare i campioni al laboratorio di riferimento indicato. I campioni saranno inviati con l'accompagnatoria (Allegato in formato excel), indicata dall'IZSve, indicando l'urgenza e la richiesta di sequenziamento genetico. La richiesta deve essere completa di tutte le informazioni necessarie e inviata agli indirizzi email in elenco, in accordo con quanto riportato nella tabella. Le indicazioni saranno integrate e aggiornate progressivamente con l'attivazione dei nuovi laboratori di Microbiologia.

Ogni laboratorio che effettua il sequenziamento rapido restituisce l'informazione al SISP richiedente per le necessarie azioni di *contact tracing*. L'informazione e il relativo flusso sarà integrato nei prossimi giorni da Azienda Zero con il SIAVr-COVID per riportare le informazioni nel gestionale, renderle disponibili agli operatori del SISP e adempiere al debito informativo presso la sorveglianza nazionale dell'Istituto Superiore di Sanità.

Per ottimizzare i tempi di identificazione di varianti note, si ritiene strategico che ogni laboratorio che abbia accesso ad una strumentazione SANGER effettui il sequenziamento parziale del gene S del virus in modo autonomo. L'IZSve è disponibile a fornire protocolli e formazione per l'implementazione di tale attività. La ripartizione dei campioni verrà rimodulata nel territorio regionale in caso di attivazione del sequenziamento SANGER in nuove unità.

¹ Circolari del Ministero del 21.5.2021 e del 25.6.2021

3.2 Rete di laboratori per il sequenziamento genetico mediante approccio Next Generation Sequencing (NGS) di SARS-CoV-2

Le dinamiche evolutive dimostrate dal virus e la necessità crescente di condividere le informazioni genetiche virali in database istituzionali nazionali (ITALIAN-COVID19-GENOMIC, I-Co-Gen sviluppata dall'ISS ed attiva dal 29 aprile 2021) e/o pubblici (GISAID), rendono sempre più importante privilegiare la generazione del genoma virale completo tramite sistema Next Generation Sequencing (NGS) rispetto al sequenziamento parziale del gene S con metodo SANGER che resta un test utile per un pre-screening rapido delle varianti già note.

Al fine di rispondere all'esigenza di aumentare il numero di genomi disponibili per la regione Veneto, è in fase di rafforzamento la rete di laboratori in grado di sequenziare mediante approccio NGS il genoma di SARS-CoV-2. Oltre ad IZSve, il laboratorio dell'Ospedale dell'Angelo (ULSS 3 serenissima) ha già attivato un flusso di caratterizzazione genetica mediante NGS di SARS-CoV-2. **Data l'attuale situazione epidemiologica favorevole, si ritiene tuttavia per ora conveniente concentrare l'attività presso l'IZSve.**

Per rafforzare il sistema di sorveglianza genetica si richiede quindi a **tutte le U.O. di Microbiologia di inviare presso l'IZSve ogni lunedì entro le ore 12:00** i campioni SARS-CoV-2 positivi individuati nella settimana precedente.

La risposta sarà inviata entro 7 giorni lavorativi (salvo ritardi dovuti a fattori esterni non prevedibili). Qualora non ci dovessero essere campioni da sequenziare rientranti nei casi descritti dalle Circolari del Ministero della Salute (campioni prioritari), ogni laboratorio **dovrà comunque inviare campioni** scelti su base casuale per il monitoraggio delle varianti circolanti (campioni random). La priorità sarà data ai campioni segnalati come urgenti e i campioni legati all'attività di monitoraggio routinario **saranno processati solo in assenza di campioni prioritari** settimanali o comunque fino al numero necessario a completare una corsa di sequenziamento.

Come in precedenza, i campioni dovranno essere inviati con l'accompagnatoria indicata dall'IZSve (Allegato in formato excel) completa di tutte le informazioni necessarie, indicando quelli prioritari e quelli random, all'indirizzo mail: seq-hcov-19@izsvenezie.it

In caso di evoluzione della situazione epidemiologica regionale che necessiti un incremento del numero di campioni positivi da sequenziare, sarà richiesto il supporto del laboratorio dell'Ospedale dell'Angelo dell'Azienda ULSS 3 serenissima (già in grado di effettuare sequenziamento NGS) e degli altri laboratori che progressivamente saranno stati attivati per il sequenziamento NGS.

3.3 Flusso dati e informazioni

Al fine di condividere i risultati tra tutti gli operatori e le istituzioni coinvolte nella sorveglianza delle varianti di SARS-CoV-2 si riporta di seguito il flusso informativo previsto. Si precisa che la comunicazione, per le finalità di interpretazione e di contact tracing, deve essere semplificata, precisando l'ULSS di provenienza, i campioni positivi e il codice variante.

1. il **laboratorio di microbiologia o il Laboratorio di Referenza Regionale (IZSve)** che individua una variante al sequenziamento rapido (SANGER) o al sequenziamento NGS, invia tempestivamente comunicazione a:
 - SISP richiedente (indirizzi e referenti in Allegato 2)
 - Direzione Prevenzione Regione Veneto: malattieinfettive@regione.veneto.it e pc. a: francesca.russo@regione.veneto.it, francesca.zanella@regione.veneto.it, debora.ballarin@regione.veneto.it

- Coordinatore della rete regionale delle microbiologie (*UOC Microbiologia di Vicenza, ULSS 8 Berica*) mario.rassu@aulss8.veneto.it
 - Laboratorio di Referenza Regionale per il Sequenziamento SARS-CoV-2 (*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie*), nel caso di altro laboratorio processante seq-hcov-19@izsvenezie.it
2. il **SISP** informa tempestivamente la Direzione Prevenzione della positività con le prime informazioni epidemiologiche disponibili su eventuali cluster da variante, integrando successivamente con una relazione più completa;
 3. il **SISP** registra tempestivamente e puntualmente le informazioni nell'applicativo SIAVr-COVID.

Tale modalità di invio esiti rimarrà in essere finché non sarà predisposto da Azienda Zero il nuovo flusso per riportare le informazioni sul gestionale regionale SIAVr-COVID.

I laboratori di microbiologia delle Aziende Sanitarie che verranno attivati per il sequenziamento NGS, dovranno inviare tempestivamente, non oltre le due settimane dall'identificazione del campione positivo per SARS-CoV-2, le sequenze genomiche generate all'IZSve (seq-hcov-19@izsvenezie.it) per l'inserimento nella piattaforma nazionale ICOGEN, nel database GISAID e per la stesura di un report mensile.

ALLEGATO 1. Laboratori di microbiologia della rete regionale del sequenziamento del genoma di SARS-CoV-2

	UO Laboratorio di Microbiologia	Referente	Mail	Telefono	note sequenziamento
ULSS 1	U.O.S.D. Microbiologia	Eliana Modolo	eliana.modolo@aulss1.veneto.it grazia.piccolin@aulss1.veneto.it	0437 516657	non attivabile
ULSS 2	U.O.C. Microbiologia virologia	Valeria Biscaro Elisa Vian	valeria.biscaro@aulss2.veneto.it elisa.vian@aulss2.veneto.it	0422 322710	in attivazione NGS
ULSS 3	U.O.S.D. Genetica, Citogenetica e Diagnostica Molecolare, Ospedale dell'Angelo	Elisa Squarcina Mosè Favarato	sai_elisa.squarcina@aulss3.veneto.it		rapido già attivo
ULSS 4	U.O.C. Laboratorio di Patologia Clinica	Marziano Gaiotto Vania Barbui	marziano.gaiotto@aulss4.veneto.it vania.barbui@aulss4.veneto.it	0421 764566	non attivo
ULSS 5	U.O.S.D. Microbiologia di Rovigo	Andrea Tessari Michela Zambon	andrea.tessari@aulss5.veneto.it michela.zambon@aulss5.veneto.it		
ULSS 6	U.O.S Microbiologia, Ospedale di Schiavonia	Giacomo Mezzapelle Serena Masiero	giacomo.mezzapelle@aulss6.veneto.it serena.masiero@aulss6.veneto.it	0429-715427	non attivo
ULSS 7	U.O.C. Medicina di Laboratorio, sede Ospedale di Santorso	Maria Plera Panozzo Di Giacomo Valentina	mariapiera.panozzo@aulss7.veneto.it valentina.digiacomo@aulss7.veneto.it		
	U.O.C. Medicina di Laboratorio, sede Ospedale di Bassano	Zoppelletto Maira Merola Francesca	maira.zoppelletto@aulss7.veneto.it francesca.merola@aulss7.veneto.it		
ULSS 8	U.O.C Microbiologia di Vicenza	Michela Pascarella Isabella Cerbaro	michela.pascarella@aulss8.veneto.it isabella.cerbaro@aulss8.veneto.it		
ULSS 9	U.O.S.D. Laboratorio Osp S Bonifacio	Novella Scattolo	novella.scattolo@aulss9.Veneto.it	045 6138105	non attivo
	U.O.S.D. Laboratorio Osp Villafranca	Maria Visconti	mariapompilia.visconti@aulss9.veneto.it	045 6712027	non attivo
	U.O.C. Laboratorio Osp Legnago	Baritono Elisabetta	betty.baritono@gmail.com	0442 622690	non attivo
AOUPD	U.O.C. Microbiologia e Virologia, AOU di Padova	Elisa Franchin Federico Dal Bello	elisa.franchin@unipd.it federico.dalbello@aopd.veneto.it		rapido già attivo
AOUIVR	U.O.C. Microbiologia, AOUI di Verona	Davide Gibellini Marco Ligozzi Caterina Signoretto	davide.gibellini@univr.it marco.ligozzi@aovr.veneto.it caterina.signoretto@univr.it	349 1725292	in attivazione NGS
IZSve	Ist. Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie	Calogero Terregino	seq-hcov-19@izsvenezie.it		già attivo

ALLEGATO 2. Direttori SISP e Referenti SISP per Varianti COVID-19

ULSS	Direttore SISP	Referente Varianti-Covid19			
		Titolare/sostituto	Nome e Cognome	Mail	Telefono
ULSS 1	SANDRO CINQUETTI	Titolare	MARICA BATTISTIN	marica.battistin@aulss1.veneto.it	347 5208552
		Sostituto	MONICA D'ALFONSO	monica.dalfonso@aulss1.veneto.it	338 2961193
ULSS 2	ERMINIO BONSEMBIANTE	Titolare	MAURO RAMIGNI	mauro.ramigni@aulss2.veneto.it	0422 323810
		Sostituto			
ULSS 3	VITTORIO SELLE	Titolare	VALERIO VALERIANO	valerio.valeriano@aulss3.veneto.it	327 2611988
		Sostituto	FEDERICA BOIN	federica.boin@aulss3.veneto.it	
ULSS 4	LORENZO BULEGATO	Titolare	ALESSANDRA FAVARETTO	alessandra.favaretto@aulss4.veneto.it	339 4539806
		Sostituto			
ULSS 5	FEDERICA FENZI	Titolare	ANDREA FORMAGLIO	andrea.formaglio@aulss5.veneto.it	328 5354060
		Sostituto	FEDERICA FENZI	federica.fenzi@aulss5.veneto.it	335 5732894
ULSS 6	IVANA SIMONCELLO	Titolare	LICIA MANISCALCO	licia.maniscalco@aulss6.veneto.it	389 6173754
		Sostituto	MARCO PIERBON	marco.pierbon@aulss6.veneto.it	345 2215592
ULSS 7	EMANUELA DE STEFANI	Titolare	ALESSANDRA DAL ZOTTO	alessandra.dalzotto@aulss7.veneto.it	0445 389 155
		Sostituto	ALICE PIEROBON	alice.pierobon@aulss7.veneto.it	0424 88 5500
ULSS 8	MARIA TERESA PADOVAN	Titolare	PAOLA BISSOLI	paola.bissoli@aulss8.veneto.it	347 0546481
		Sostituto	RIGOTTO LUCIA	lucia.rigotto@aulss8.veneto.it	
ULSS 9	VIVIANA COFFELE	Titolare	GREGO KATIA	katia.grego@aulss9.veneto.it	335 7310752
		Sostituto			