



**Intervento realizzato avvalendosi del Finanziamento Piano Sviluppo e Coesione Veneto – Sezione Speciale** - Area Tematica “PSC 1- RICERCA E INNOVAZIONE” - Azione EX POR FESR 1.1.4 “Sostegno alle attività collaborative di R&S per lo sviluppo di nuove tecnologie sostenibili, di nuovi prodotti e servizi”

**VIPER MED – sviluppo di Processo e di sistema diagnostico per analisi mutazionali di patologie Ereditarie Retiniche e nefrologiche basato su MEtoDiche avanzate di sequenziamento genico e per monitoraggio digitale dei pazienti. ID Domanda n. 10449324**

#### **MODELLO DESCRITTIVO DEL PROGETTO**

RAGIONE SOCIALE DELLA CAPOFILA: DOTT. DINO PALADIN

C.F. / P.IVA DELLA CAPOFILA: PLDDNI54M26F963N / 01032420281

**DURATA DEL PROGETTO PREVISTA IN MESI** (in mesi): 30

Inizio del progetto (giorno/mese/anno): 01/03/2022

Fine del progetto (giorno/mese/anno): 30/08/2024

#### **BUDGET**

Spesa Ammessa: € 359.943,00

Contributo Concesso: € 143.997,20

#### **DESCRIZIONE**

Negli ultimi anni le metodiche NGS (Next Generation Sequencing), sviluppate a partire dall'inizio degli anni 2000 e successivamente impiegate sempre più estesamente in ricerca, permettendo la determinazione delle sequenze costituenti il DNA genomico, il trascrittoma (RNA) e l'epigenoma con costi via via decrescenti e produttività crescenti, hanno fatto il loro ingresso anche in clinica, sostituendo progressivamente molte metodiche già in uso e permettendo nuove applicazioni della diagnostica molecolare grazie all'ampiezza delle informazioni che si ottengono da queste analisi, con un andamento in forte crescita che continua tuttora.



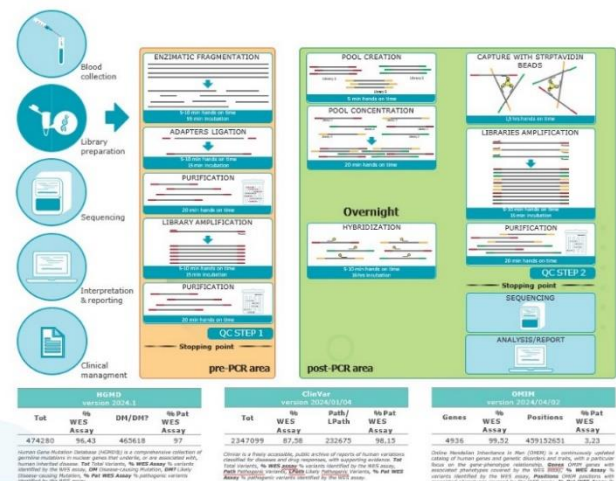
Il progetto si propone di sviluppare saggi diagnostici genetici basati su metodiche NGS per la diagnosi di malattie ereditarie, eseguibili utilizzando kit di reagenti e software di analisi da commercializzare come dispositivi IVD (In Vitro Diagnostics), ossia dispositivi medico-diagnostici in vitro conformi al Regolamento Europeo per i dispositivi medici diagnostici in vitro (Regolamento Europeo n. 2017/746, abbrev. IVDR) e dotati quindi della corrispondente marcatura CE (marcatura CE IVD).

Oltre allo sviluppo di metodiche NGS applicabili in generale alla diagnosi di malattie ereditarie, tali metodiche verranno applicate a due casi concreti di particolare interesse, verranno infatti sviluppati in particolare

- un dispositivo IVD per la diagnosi di rene policistico autosomico dominante (ADPKD, Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease), che rappresenta unadelle maggiori cause genetiche di morbilità e mortalità nella popolazione adulta
- un dispositivo IVD per la determinazione di mutazioni causative di distrofie ereditarie della retina (IRDs, Inherited Retina Distrophies), un gruppo di patologieoculari geneticamente determinate caratterizzate da una progressiva perdita della visione nel tempo, per alcune delle quali, quelle causate da mutazioni del geneRPE65, è disponibile una terapia genica innovativa.

Il progetto si propone anche di automatizzare parte dei processi di produzione di dispositivi IVD basati su metodiche NGS, che presentano complessità superiori rispetto ai processi produttivi di dispositivi IVD basati su altre metodiche in biologia molecolare più consolidate.

Il sequenziamento NGS richiede, dopo la fase preanalitica di estrazione e purificazione dell'acido nucleico (DNA o del RNA) comune alle altre metodiche in biologia molecolare, delle fasi di preparazione del campione al sequenziamento, la cosiddetta Library Preparation.



Flusso di lavoro del saggio Whole Exome Sequencing e statistiche di copertura di database clinici

Le Libraries sono frammenti corti di acidi nucleico (dell'ordine delle centinaia di basi, i costituenti elementari dei filamenti di acido nucleico) opportunamente preparati per consentire il sequenziamento.

Per permettere il sequenziamento di regioni ristrette (targeted) senza dover sequenziare l'intero genoma, si possono utilizzare due approcci per selezionare solo frammenti che ricadono nelle regioni di interesse

- a cattura, in cui le regioni di interesse vengono catturate per ibridazione (appaiamento) a sequenze di acido nucleico (sonde) complementari a quelle che devono essere catturate; le sonde sono vincolate su particelle magnetiche che possono essere catturate con l'uso di magneti, trascinandoci con sé selettivamente i frammenti ad esse appaiati
- ad ampliconi, in cui le regioni di interesse vengono replicate selettivamente in grande quantità attraverso reazioni di polimerizzazione tramite reazioni PCR (Polymerase Chain Reaction) che partono da sequenze di innesco (primer) che si appaiano alle estremità delle regioni da selezionare (processo di amplificazione dell'acido nucleico).



Le diverse sequenze di sonde o di primer vengono acquistate come materie prime da aziende che le sintetizzano, e vengono miscelate in fase di produzione del kit di reagenti per il sequenziamento, generando i pool di sonde o primer che verranno usati dall'utilizzatore del kit per preparare i campioni al sequenziamento. Pool di sonde e primer vengono usati anche in altre metodiche in biologia molecolare, ma nelle metodiche NGS le diverse sequenze possono essere dell'ordine di diverse centinaia, mentre nelle altre metodiche in biologia molecolare sono tipicamente dell'ordine di qualche unità.

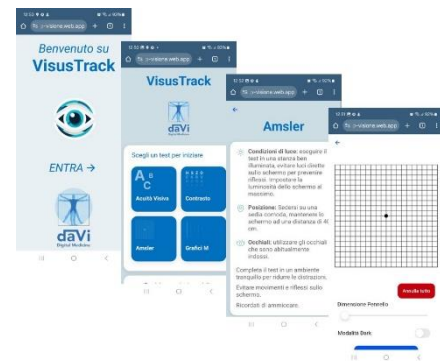
Il controllo di qualità di sonde e primer avviene eseguendo delle reazioni di cattura o di amplificazione di prova, ed è piuttosto laborioso e soggetto ad errori e a problemi di contaminazione. Scalare tali procedure da poche unità di sequenze diverse a diverse centinaia di sequenze diverse pone seri problemi di sostenibilità del processo produttivo, per la lunghezza delle procedure e per la elevata probabilità di errori che possono determinare la necessità di scartare il lotto di produzione.

Verranno pertanto studiati processi automatici per l'effettuazione dei controlli di qualità di sonde e primer, a partire dall'acquisizione in automatico, nei sistemi informativi a supporto dei reparti di produzione, dei dati di sequenza che accompagnano le sequenze, allo studio di processi di allestimento automatizzato delle reazioni per il controllo di qualità, in condizioni di abbattimento della contaminazione.

Nell'ottica di una offerta integrata al fianco del medico specialista lungo tutto il percorso di gestione del paziente, il progetto si propone infine di sviluppare un dispositivo medico digitale per la gestione della retinopatia.

L'applicazione digitale avrà funzioni:

- di misurazione della funzione visiva attraverso la esecuzione di test specifici quali la griglia di Amsler per consentire il monitoraggio della patologia e fornire al medico oculista le informazioni necessarie alla valutazione clinica
- di trattamento della malattia stessa, attraverso l'erogazione ai pazienti e ai loro caregiver di contenuti educativi utili sia a migliorare la propria qualità di vita nonostante la malattia, che a sostenerli nel loro percorso di aderenza terapeutica.



Screenshot dell'app per la gestione della retinopatia

In aggiunta a tale attività a finalità clinica, il dispositivo medico digitale fornirà inoltre al paziente una serie di funzioni per la gestione di servizi assistenziali, quali l'accesso alla prenotazione a servizi medici di oculistica e di supporti specifici per il caregiver. Il dispositivo medico digitale sarà idoneo ad essere sottoposto a valutazione di efficacia clinica attraverso sperimentazione clinica e ad essere successivamente certificato quale dispositivo medico.

Sarà inoltre integrabile nelle piattaforme di telemedicina per agevolare il dialogo e la comunicazione da remoto tra paziente e medico. In commercio sono presenti dei kit per la determinazione dello stato di avanzamento della patologia come il Verana Vision test che prevede l'analisi della capacità visiva da remoto, in questo modo il paziente può fare l'analisi da casa e fornire i risultati al proprio medico senza la necessità di recarsi in ospedale.

Questo kit andrà oltre, non solo consentirà la stadiazione della malattia e il consulto con il medico ma fornirà ai pazienti delle indicazioni per il trattamento e la convivenza con questa patologia.



Il dispositivo fungerà inoltre da collegamento tra il paziente e l'azienda sanitaria locale facilitando la prenotazione delle visite specialistiche e l'accesso ai servizi assistenziali.

## SOGGETTI ATTUATORI:



Il progetto ViperMed è realizzato dalla Rete di Imprese VIPERMED NET.