

TITOLO del LAVORO:

Identificazione di agenti Biologici (Virus) mediante l'uso di sistemi ottici per la minimizzazione del rischio di Pandemie

Descrizione del Progetto:

L'identificazione di virus ambientali ed umani avviene oggi giorno mediante l'utilizzo di tecniche PCR ed analisi sierologica che permettono una risposta esatta e precisa del contenuto del campione ma con tempi non adeguati agli standard di sicurezza e limitazione di eventuali pandemie in atto. L'analisi sierologica va ad individuare la presenza di anticorpi del virus SARS-CoV-2 nel sangue, nella fattispecie IgM e IgG. Le prime si rilevano a circa 4 – 6 giorni dalla comparsa dei sintomi e scompaiono dopo qualche settimana, mentre le IgG sono prodotte circa 10 giorni dopo la comparsa dei sintomi e permangono per un periodo molto più lungo. Tuttavia, è stato ampiamente discusso dalla comunità scientifica come l'analisi sierologica non sia un buon indicatore per una diagnosi tempestiva dell'infezione attiva, rendendo il tampone faringeo lo strumento attualmente più efficace.

Come già stiamo notando i tempi d'identificazione dei virus (COVID – 19 ne è un esempio) ne influenzano fortemente lo stato di diffusione e contenimento di eventuali infezioni biologiche. Anche la stessa identificazione mediante i tamponi rapidi sembra siano poco affidabili con tempi mediamente non minori di una decina di minuti, per identificare un eventuale positivo con sensibilità che non vanno oltre al 30- 45% con danni economici non indifferenti.

Lo sviluppo di tecniche diagnostiche alternative, in grado di fornire risposte più rapide (in quasi real-time) e/o accurate, potrebbe aiutare in maniera significativa nel monitoraggio della diffusione del virus, nella prevenzione di insorgenza di focolai e nel ridurre quanto più possibile le restrizioni di tipo sociale che, come abbiamo visto, comportano anche gravi perdite dal punto di vista economico.

La proposta di ricerca mira a valutare la potenzialità di tecniche ottiche nell'individuare la presenza del virus, focalizzando l'attenzione su due possibili tecniche spettroscopiche: la tecnica LIF (Laser-Induced Fluorescence) e la tecnica Raman. Buoni risultati sono stati ottenuti dal gruppo di ricerca di Elettronica Quantistica e Plasmi (QEP), nato dalla collaborazione tra il Dipartimento di Ingegneria Industriale e quello di Biomedicina e Prevenzione, che ha portato alla pubblicazione di numerosi lavori sulla tematica (Gabbarini V., Journal of Instrumentation, 2019; Carestia M., Optical Engineering, 2015; Carestia M, Fotonica AEIT, 2014). La fluorescenza è quel fenomeno per cui alcune sostanze, dopo essere state irraggiate con una radiazione ad una certa frequenza, riemettono una luce meno energetica e spostata verso lunghezze d'onda maggiori. Le molecole che emettono fluorescenza sono note con il nome di fluorofori (o fluorocromi). Ciascun fluoroforo ha una risposta spettrale che differisce dagli altri e, in genere, tale risposta è anche funzione della lunghezza d'onda della radiazione eccitatrice. Sono diverse le pubblicazioni che mostrano come tale tecnica possa essere utilizzata per la classificazione di macro famiglie di agenti biologici. Un recente studio e con promettenti prospettive è stato pubblicato recentemente su Scientific Reports da parte di questo gruppo di ricerca (Gabbarini V, Scientific Reports, 2019). Nel lavoro si descrive l'applicazione della LIF alla classificazione di picornavirus e rotavirus. In tale studio sono stati analizzati sei differenti campioni: Epatite A, Coxsackie A7, Coxsackie A9, Coxsackie B4 e una miscela di quattro virus (Rotavirus, Epatite A, Echovirus e Astrovirus). Lo studio ha dimostrato come la tecnica LIF, per quei virus, sia stata in grado di classificare adeguatamente tutti i campioni, raggiungendo delle performance di classificazione del 100%. Tuttavia, la classificazione di questi virus è stata testata in un ambiente controllato, dove la fluorescenza di background che potrebbe derivare da altri fluorofori è stata ridotta al minimo termine rendendo necessari ulteriori studi lo sviluppo di una tecnologia che possa funzionare su una varietà di campioni e buffer differenti e di comune utilizzo in

laboratorio. Per quanto riguarda la tecnica Raman, invece, è una tecnica di spettroscopia molecolare che sfrutta l'interazione della luce con le molecole per ottenere informazioni circa le loro caratteristiche. Le informazioni fornite dalla spettroscopia Raman si ottengono mediante un processo di diffusione (scattering) della luce. La spettroscopia Raman fornisce uno spettro caratteristico delle specifiche vibrazioni di una molecola (una sorta di "impronta digitale molecolare") utili per l'identificazione della sostanza. Il problema fondamentale di questo tipo di analisi spettroscopica che la sua accuratezza nel riconoscere la molecola si scontra con la scarsa intensità dei segnali di scattering osservati.

L'attività progettuale che s'intende proporre è quella di valutare l'applicazione di tecniche LiF e/o Raman alla rivelazione rapida ed al riconoscimento di sostanze biologiche, virus, nell'ottica di poter utilizzare queste metodiche per l'analisi e la rivelazione dei virus SARS-COV-2 focalizzandosi, per dimostrare la fattibilità di tale studio, su campioni di Coronavirus non patogeni per l'uomo e comunemente trovati nell'ambiente, per consentire una prima analisi speditiva, riducendo il rischio per gli operatori, le tempistiche per la realizzazione del progetto e potendo sfruttare le facilities disponibili presso i due dipartimenti coinvolti. Le prove saranno eseguite mediante l'utilizzo di campioni di saliva umana eventualmente diluiti in soluzione fisiologica (0,9% NaCl) o testando le soluzioni di trasporto dei campioni umani in soluzioni saline commerciali.

La prima fase dello studio punta all'ottimizzazione di due sistemi ottici di laboratorio basati su tecniche LiF e Raman che saranno sviluppati nei laboratori QEP per la valutazione delle minime concentrazioni rilevabili del virus e dell'influenza del segnale di background.

In questa prima fase verrà realizzato un sistema sperimentale (apparato ottico) integrato con algoritmi di classificazione ottimizzato per un protocollo di misura tale da poter cominciare la fase di studio dei campioni di saliva inoculati con piccole quantità di Corona Virus Ambientali in modo tale da determinare la capacità dello strumento nel discriminare e rilevare piccole quantità di Virus compatibili con quelle presenti in fase infettiva nella saliva di una persona infetta. Saranno a questo punto analizzate le performance per questo virus che, data la somiglianza con i virus della sua stessa famiglia, dovrebbe avere delle risposte ottiche comparabili con il SARS COV-2 Umano.

In caso di esito positivo delle misure nella seconda fase sarà progettato e messo a punto il dimostratore di sistema in grado di rilevare su campioni biologici, essenzialmente saliva, la presenza di contaminazioni di virus di tipo Corona da poter essere utilizzato come sistema di risposta rapida per l'identificazione di persone potenzialmente infette. Un tale sistema se funzionante con limiti di sensibilità accettabili, potrebbe essere utilizzati per i controlli di accesso alle infrastrutture come centri commerciali, stazione dei treni, metro, aeroporti ecc. minimizzando la possibilità di diffusione di agenti biologici e minimizzazione di eventuali situazioni di pandemia.

Obiettivi formativi:

Lo studente acquisirà le competenze fisiche ottiche ed ingegneristiche necessarie per poter utilizzare strumentazione laser per eseguire misure di concentrazione di agenti biologici. Acquisirà inoltre le tecniche di analisi avanzata che vanno sotto il nome di "machine Learning" con le quali è possibile analizzare e trarre informazioni dall'analisi di grosse mole di dati scientifici. Infine, sarà avviato a impostare un progetto di sistema partendo da un dimostratore per ottenere un prototipo da avviare alla produzione industriale.

Attività previste:

1. attività di laboratorio per la realizzazione di sistemi ottici per eseguire misure su campioni biologici e di natura gassosa.

2. Sviluppo di routine ed interfaccia di strumentazione scientifica per automatizzazione dei processi di acquisizione dei dati sperimentali ed analisi dati
3. Partecipazione a congressi e conferenze nazionali ed internazionali per la presentazione dei risultati ottenuti;
4. Divulgazione dei risultati mediante la scrittura di articoli scientifici.
5. Periodo di stage presso l'azienda Veritas SpA di analisi ambientali con sede presso il comune di Venezia Mestre, dove acquisirà le competenze necessarie per capire le problematiche che intervengono in attività di analisi ambientale.

Attinenza del progetto all'area indicata:

Il progetto formativo che seguirà lo studente porterà allo sviluppo di un dimostratore di sistema in grado di misurare mediante l'uso di misure che utilizzano tecniche ottiche la presenza e stimare la concentrazione minima di presenza di agenti biologici (batteri e virus) all'interno della saliva umana. Tale progetto ricade completamente nelle tematiche di innovazione poiché, un esito positivo delle misure ottenute nell'ambito del progetto formativo, comporterebbe la possibilità di progettare un dimostratore che potrebbe essere estremamente utile, favorendo opportuni modelli di ricerca e individuando specifici profili di personale per avviare nuove attività imprenditoriali. L'impatto di questa tecnologia, infatti, sul controllo ad esempio di una pandemia come quella che stiamo vivendo sarebbe rilevante. La riduzione del tempo di analisi dei tamponi (da un giorno a pochi minuti al massimo) garantirebbe una risposta più rapida all'insorgenza di nuovi focolai. I costi potrebbero anche essere ridotti e la semplicità di funzionamento di tale tecnica potrebbe permettere una installazione più distribuita nel territorio, richiedendo anche un personale meno esperto ma opportunamente formato per l'uso di tale strumentazione.

Risultati attesi

Nel processo di formazione ci si attende che lo studente apprenda:

1. Capacità di realizzare un database di firme spettrali che saranno il frutto dell'elaborazione delle misure sperimentali utili all'identificazione e/o classificazione degli agenti biologici.
2. Capacità di analisi utilizzando tecniche avanzate di calcolo note come "Machine Learning" utilizzando i principali software di programmazione Matlab e/o Python;
3. Capacità di discriminazione e classificazione delle diverse firme spettrali tipiche di diversi agenti biologici;
4. Capacità di selezione e progettazione del dimostratore finale ottimizzato sia dal punto di vista tecnologico che di analisi software.