



AZIONE BIOTECH 2 BIS TEMA 1 ISIB/CNR

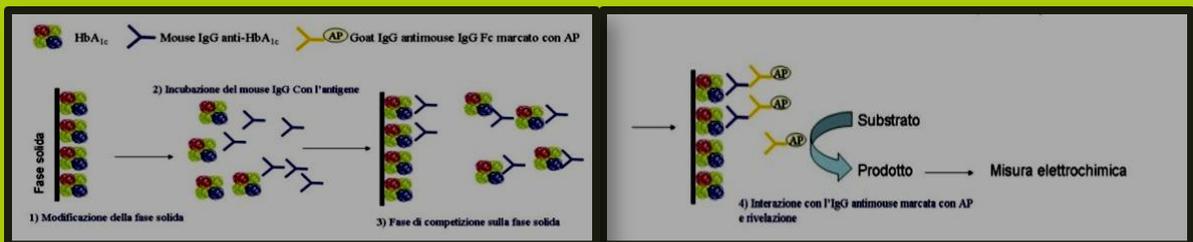


ATI 1 (bioFutura S.r.l. Portogruaro-VE /ALA Engineering SRL Saonara-PD)

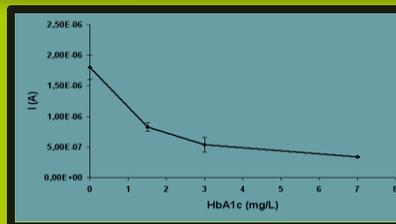
L'EMOGLOBINA GLICOSILATA COME INDICE DI CONTROLLO GLICEMICO DEL PAZIENTE DIABETICO: SVILUPPO DI UN SISTEMA ANALITICO A BIOSENSORE

Convenzionalmente il livello ematico di glucosio nel paziente diabetico è controllato quotidianamente, per il trattamento con insulina, dallo stesso paziente. Poiché la concentrazione ematica di glucosio fluttua rapidamente in seguito al consumo di cibo o all'iniezione di insulina, è richiesta l'adozione di un più adatto metodo di controllo della glicemia. L'Emoglobina Glicosilata (HbA1c) nei diabetici è un parametro strettamente correlato alla concentrazione ematica media di glucosio degli ultimi tre mesi, in relazione al tempo di vita dei globuli rossi. La determinazione della sua concentrazione ematica può effettivamente aiutare il paziente diabetico ed il team medico nella pianificazione del trattamento sanitario. Per questo abbiamo studiato e progettato in laboratorio un sistema per il controllo della concentrazione di HbA1c in grado di eseguire determinazioni anche su singoli pazienti, di uso semplice, portatile e con un buon grado di accuratezza e di precisione.

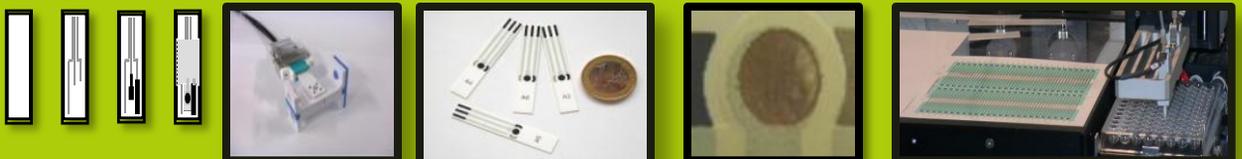
La nostra attenzione si è focalizzata sullo sviluppo di un immunosensore che utilizzasse la capacità degli anticorpi monoclonali di distinguere tra, emoglobina glicata, non-glicata e altre sue varianti. La competizione per lo stesso sito antigenico presente sull'anticorpo monoclonale tra l'emoglobina glicata, presente su di un supporto, e quella del campione analizzato, abbinata ad un anticorpo secondario, marcato con un enzima adeguato, consente la determinazione della concentrazione di HbA1c nel sangue.



Dati Progetto Diabete	
Valore percentuale dell'HbA1c	Livello di rischio
<6%	Rientra nella media
<7,5%	Appena superiore alla media
<8,5%	Apprezzabile
<10%	Alto
>10%	Molto alto



La realizzazione del biosensore per la determinazione dell'emoglobina glicosilata ha richiesto quindi l'adozione della tecnologia screen printing per la stampa di sensori planari adatti ad applicazioni cronopotometriche e l'esatta configurazione degli elettrodi utilizzati in questo tipo di determinazione è riportata nella figura sottostante. Per la deposizione sperimentale dello strato immunoreattivo sulla superficie attiva del sensore ci si è avvalsi dello strumento BIO-DOT, il quale è in grado di depositare con precisione nanovolumi sull'elettrodo di lavoro. I sensori costruiti sono delle celle elettrochimiche a tre elettrodi in cui l'elettrodo di lavoro è specificamente modificato per la determinazione tramite la tecnica di Voltammetria. Sono sensori monouso. Ogni sensore serigrafato è formato da un elettrodo di lavoro di forma circolare (diametro 3 mm), un elettrodo di pseudo-riferimento in argento ed un contro elettrodo a base di grafite.



Per il rilevamento della reazione chimica che sta alla base della determinazione della concentrazione di HbA1c ci siamo avvalsi di una tecnica voltammetrica conosciuta come DVP (Voltammetria Pulsata Differenziale), con la quale è possibile amplificare il segnale attraverso la riduzione della corrente capacitativa. Tale tecnica consiste in una scansione da un valore di potenziale iniziale ad un finale eseguita attraverso una serie di impulsi di tensione, di tempo ed ampiezza costante. Se inoltre si misura la differenza di corrente che passa un attimo prima dell'impulso e negli ultimi istanti dello stesso, si ottiene una differenza di corrente solo faradaica, dato che la corrente capacitativa decresce rapidamente subito dopo l'applicazione dell'impulso, ottenendo in tal modo un segnale privo di interferenze dovute all'accumulo di cariche elettrostatiche. La somma dei differenziali di corrente consente di costruire un picco in corrispondenza di un potenziale di picco. La comparazione dell'altezza del picco, rispetto ai picchi ottenuti dalla calibrazione con concentrazioni note di analita, permette di determinare la concentrazione incognita dell'analita stesso presente nella matrice in esame. La tecnica è molto sensibile e consente di rilevare analiti ad una concentrazione pari a 10-100 microgrammi /L.

