

Cod. progetto 5M-2020-23682496

Responsabile Scientifico:

Dott. Stefano Gaiarsa

Unità Operativa:

Microbiologia e Virologia

Titolo progetto:

Leveraging real-time genomics in emergency situations: closing the gap towards sequencing-based sepsis diagnostics

Sintesi Progetto - Abstract:

Un'opinione molto popolare riguardante la microbiologia clinica è che nel prossimo futuro la genomica sarà utilizzata quotidianamente in tutti i laboratori del mondo come strumento diagnostico. Uno degli più grossi ostacoli da superare per realizzare questa previsione ha a che fare con la gestione del tempo. Solitamente, il sequenziamento genomico richiede decine di ore per ottenere le sequenze grezze (read) e le analisi bioinformatiche possono essere eseguite solo a sequenziamento ultimato. Il tempismo però è fondamentale quando si ha a che fare con le malattie infettive: più presto si ottiene la diagnosi, migliore sarà l'esito per il paziente. Infatti, una tempestiva diagnosi e una tempestiva caratterizzazione dell'agente eziologico consentono di iniziare il trattamento precocemente e di ridurre l'uso di trattamenti antimicrobici empirici non mirati.

In questo progetto, proponiamo di sviluppare e testare un approccio modulare che ci permetta di accedere al dato genomico dei patogeni quasi in tempo reale. L'approccio verrà sviluppato per la diagnosi della sepsi, una delle peggiori manifestazioni cliniche delle infezioni microbiche, che uccide milioni di persone ogni anno. Il nostro metodo si baserà sulla tecnologia di sequenziamento Oxford Nanopore, che consente all'utente di accedere alle read anche durante il sequenziamento (che richiede solo dieci minuti per la preparazione). Un'ulteriore sfida da vincere per ridurre il tempo totale del sequenziamento riguarda l'ottenimento del DNA del patogeno che dovrà essere sequenziato. Solitamente, in genomica batterica, la coltura viene utilizzata per ottenere campioni batterici puri. Infatti, la presenza di poche cellule umane può compromettere l'esperimento, poiché una singola cellula umana contiene la stessa quantità di DNA di circa 1000 cellule batteriche. Tuttavia, l'emocoltura richiede da alcune ore ad alcuni giorni, a seconda del tempo di replicazione delle diverse specie batteriche. Pertanto, vogliamo sviluppare un metodo per l'isolamento batterico senza coltura, che sfrutterà la microfluidica per combinare una serie di approcci di biologia molecolare, fisica e biochimica, poiché nessuno di questi da solo è sufficientemente efficace. L'approccio sarà completato da una seconda fase di tipo bioinformatico, che sfrutterà la possibilità di sequenziare selettivamente il DNA recentemente implementata da Oxford Nanopore. Anche l'analisi dei dati genomici avverrà durante il sequenziamento, in modo da ridurre ulteriormente il tempo per la diagnosi. Svilupperemo un pacchetto software che ci consentirà di identificare il patogeno fino al livello del Sequence Type (per i patogeni più comuni, per i quali è disponibile uno schema di tipizzazione) e caratterizzarlo in termini di presenza di fattori di virulenza e di resistenza antimicrobica, già dai primissimi minuti di sequenziamento.

Una volta messo a punto, il nostro sistema sarà testato in parallelo con il metodo diagnostico tradizionale su campioni di sepsi raccolti da pazienti assistiti nel pronto soccorso del nostro ospedale. Misureremo le sue prestazioni in termini di precisione del risultato e di tempo risparmiato.

Inizio Progetto:

01/12/2022

Fine Progetto:

30/11/2024

Costo complessivo del progetto:

100.000,00

Totale quote 5 x mille:

37.000,00

Anno riferimento 5 x mille:

2020

Data percezione fondi 5 x mille:

18/10/2021

Budget

Voce	Quota assegnata
Personale di ricerca	0,00
Apparecchiature	0,00
Materiale uso destinato alla ricerca	37.000,00
Spese di organizzazione	0,00
Elaborazione dati	0,00
Spese amministrative	0,00
Altro (indicare quali)	0,00
	37.000,00