

L'utilizzo di sistemi automatici per l'estrazione e l'analisi, con metodiche di amplificazione degli acidi nucleici (NAs) è oggi una realtà in tutti i laboratori di medicina umana e in molti laboratori di ricerca, mentre il loro impiego in ambito veterinario è a tutt'oggi molto limitato. Il motivo è essenzialmente economico, infatti, la ragione principale di un così poco diffuso utilizzo di sistemi automatici nella ricerca dei NAs di agenti patogeni in campo veterinario o alimentare è dovuto all'utilizzo di materiale plastico monouso e cartucce di reattivi usa e getta che di fatto ne rendono troppo oneroso l'utilizzo in questi ambiti. D'altra parte, il risparmio di manodopera, la domanda di accorciare i tempi di analisi, alcuni miglioramenti della qualità e sicurezza dei laboratori, uniti alla possibilità di affrancare gli operatori da compiti ripetitivi e monotoni, che sono quelli più inclini agli errori umani e che più facilmente possono essere automatizzati, rendono auspicabile l'utilizzo di questi sistemi anche nei laboratori di analisi che si occupano di medicina veterinaria e del controllo degli alimenti.

Nel settore della biologia molecolare, il nostro istituto ha sviluppato nel corso degli anni una notevole esperienza, con emissione e validazione di numerosi metodi di prova in grado di rilevare NAs appartenenti a svariati patogeni. Queste metodiche si articolano sempre in due fasi: una fase di estrazione degli NAs e una fase di amplificazione. La prima delle due fasi è quella più difficile da automatizzare a causa dell'elevata diversità delle matrici di partenza, mentre per la seconda sono già ora disponibili sistemi robotizzati in grado di processare autonomamente i campioni con minimo impegno da parte degli operatori. Recentemente si sono resi disponibili sul mercato robot in grado di eseguire anche l'estrazione degli NAs in maniera automatica, utilizzando approcci basati su biglie magnetiche rivestite con polimeri ad elevata affinità per gli NAs.

Lo scopo del nostro lavoro è automatizzare le varie fasi dei metodi di prova qPCR per la rilevazione in campioni diagnostici (feci) degli acidi nucleici di *Mycobacterium avium subsp paratuberculosis* (MAP). Lo sviluppo di questa metodica in sistemi automatici sarà impiegata come prototipo per valutare una successiva estensione di tali approcci anche in altri ambiti (matrici differenti) e per la diagnostica di altri agenti eziologici. Per ottenere questi risultati, dopo un'iniziale fase di sviluppo in cui saranno sviluppate le formulazioni dei tamponi e le procedure più idonee, si procederà ad un confronto delle performance ottenute con metodiche di riferimento già in uso presso i nostri laboratori.

Gli obiettivi prefissati del progetto a breve termine (fine del progetto) sono di stendere un nuovo metodo di prova per la ricerca di MAP utilizzando sistemi automatici con un minimo intervento da parte dell'operatore. Per il lungo termine, riteniamo che l'esperienza che matureremo affrontando questa difficile matrice (feci) possa essere sfruttata anche in altre metodiche con matrici meno complesse o che presentano meno inibitori. Inoltre, l'implementazione di un tale tipo di approccio è volta a liberare gli operatori dai compiti ripetitivi e monotoni, consentendone l'impiego in settori più importanti e delicati.

I nostri risultati saranno divulgati all'interno della comunità degli Istituti Zooprofilattici durante congressi e / o seminari.

Bibliografia di riferimento essenziale;

- Xiao L. Designing and implementing a large-scale high-throughput Total Laboratory Automation (TLA) system for DNA database construction. *Forensic Sci Int.* 2019; 302:109859.
- Thatcher SA. DNA/RNA preparation for molecular detection. *Clin Chem.* 2015;61(1):89-99.