



**UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO  
DI INGEGNERIA  
DELL'INFORMAZIONE**

**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE**

**CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**“BIOSENSORI: UNA FRONTIERA IN CONTINUA ESPANSIONE NEL  
CAMPO DELLA RICERCA BIOMEDICA”**

**Relatore: Prof. Gaudenzio Meneghesso**

**Laureanda: Alice Galtarossa**

**ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022**

**20 Settembre 2022**

## INDICE

### INTRODUZIONE 4

#### Capitolo 1

Sensori biomedici: caratteristiche principali	6
1.1 Rappresentazione generale di un sensore	6
1.2 Suddivisione dei trasduttori	8
1.3 Proprietà generali ricercate in un trasduttore	9
1.4 Sorgenti di errore e calibrazione	11
1.5 Caratteristiche statiche e dinamiche	12

#### Capitolo 2

##### I sensori fisici

##### Introduzione 16

2.1 I sensori di temperatura	16
2.1.1 I trasduttori termoresistivi	17
2.1.2 I termistori	19
2.1.3 Le termocoppie	21
2.1.4 I sensori di temperatura in biomedica	23
2.2 I sensori di posizione	25
2.2.1 Gli estensimetri	25
2.2.2 Gli estensimetri in biomedica	27
2.2.3 I sensori capacitivi	27
2.2.4 I sensori capacitivi in biomedica	29
2.2.5 I sensori induttivi	29
2.2.6 I sensori induttivi in biomedica	30
2.3 I sensori di pressione	31
2.3.1 I sensori di fibra ottica	31
2.3.2 Metodi di rilevazione della pressione arteriosa	32
2.4 Metodi di rilevazione del flusso	34
2.4.1 Pletismografia ad occlusione venosa	35
2.4.2 Il metodo di diluizione di Fick	35
2.4.3 Le misurazioni del flusso in biomedica	36

#### Capitolo 3: I biosensori

##### Introduzione 37

3.1 Caratteristiche e principali utilizzi in campo biomedico	37
3.2 Tipologie di biosensori	39
3.3 I biosensori catalitici	39
3.3.1 I sensori di glucosio	40
3.3.2 Il metodo della ionoforesi	41
3.3.3 La tecnica della microdialisi	41
3.4 Gli immunosensori	42
3.5 I sensori a DNA	44

3.5.1 I biochip	5
3.5.2 Problemi e applicazioni dei biochip	46
Conclusioni	48
BIBLIOGRAFIA	49

## INTRODUZIONE

L'affermazione di nuove scoperte scientifiche e il loro sviluppo in strumenti elettronici miniaturizzati ha consentito la nascita di nuovi interessanti prospettive negli ambiti della ricerca biomedica e dell'analisi clinico-diagnostica. L'evoluzione di dispositivi per utilizzi biomedici costituisce senza dubbio una delle più importanti prospettive innovative dell'ingegneria biomedica soprattutto per il fatto che grazie alle loro potenzialità, essi possono dare un notevole impulso nel monitoraggio di terapie farmacologiche, nell'individuazione di numerose patologie e nel controllo di parametri vitali fino a giungere talvolta a sostituire l'opera del medico.

Nell'ambito della realizzazione di questi dispositivi biomedici la prima richiesta da considerare è senza dubbio la biocompatibilità. Dal momento che sono progettati per entrare a diretto contatto con l'ambiente biologico è necessario che vengano rispettate le caratteristiche di sicurezza e affidabilità per prevenire eventuali criticità e problemi di tossicità o infezioni. È molto importante poi costruire degli strumenti caratterizzati da proprietà quali accuratezza, riproducibilità, sensibilità al fine di garantire delle prestazioni ottimali dal punto di vista della precisione e dell'attendibilità. Nella progettazione di un sensore bisogna poi considerare il tipo di grandezza e il sito dove questa viene rilevata allo scopo di adattare la costruzione del sistema sulla base delle sue caratteristiche. Nell'interazione con l'interfaccia biologica è bene poi prendere in esame oltre alle criticità legate al contatto tra il sistema artificiale rappresentato dal dispositivo biomedico e l'ambiente biologico anche il tempo di risposta, parametro fondamentale nell'analisi clinica e soprattutto soggetto a variazioni che dipendono dal tipo di monitoraggio impiegato. Oltre a studiare gli aspetti legati prettamente alle interazioni con l'ambiente biologico è importante anche analizzare le componenti elettroniche che costituiscono il sensore nonché l'elemento più importante ovvero il trasduttore. I dispositivi biomedici infatti oltre a possedere un sistema di riconoscimento biologico, sono dotati di un complesso adibito all'elaborazione dei dati. Il trasduttore infatti trasforma il segnale proveniente dal legame tra il recettore biologico e il substrato in un impulso elettrico. Sebbene i sistemi elettronici di elaborazione e i complessi computerizzati di programmazione abbiano goduto degli avanzamenti operati dalla tecnologia elettronica degli ultimi anni diventando sempre più sofisticati e attendibili, il trasduttore è restato un elemento estremamente critico e delicato, le cui proprietà spesso hanno limitato le performance dell'intero dispositivo di rilevazione. Spesso infatti il trasduttore si trova a lavorare con sostanze delicate e aggressive senza tenere conto delle sempre più pressanti richieste di miniaturizzazione che vengono sollevate allo scopo di produrre strumenti che siano sempre meno invasivi e fastidiosi per il paziente e che possano essere impiantati per lunghi periodi come per esempio in operazioni chirurgiche. Anche lo studio dei materiali impiegati nella costruzione e l'analisi dei metodi

trasduttivi rappresentano quindi dei passaggi fondamentali nella ricerca di perfezionamento delle proprietà dei sistemi biomedici e nello sviluppo di nuove tecnologie. Partendo da questi spunti, questa tesi si propone di studiare il mondo dei sensori a partire dallo studio della struttura e dei principi di funzionamento dei trasduttori fino a giungere alla rappresentazione degli strumenti più innovativi nel campo della tecnologia biomedica.

## Capitolo 1

### Sensori biomedici: caratteristiche principali

#### 1.1 Rappresentazione generale di un sensore

Gli sviluppi delle biotecnologie nella ricerca biomedica, la continua evoluzione di nuovi strumenti elettronici e le crescenti necessità di migliori performance mediche hanno contribuito a produrre notevoli innovazioni sia nel campo della clinica diagnostica che nell'ambito terapeutico. Lo sviluppo di sistemi di misura con strumentazioni sempre più accurate hanno conosciuto una enorme crescita negli ultimi anni, contribuendo a dare impulso a un settore ormai all'avanguardia quale è l'ingegneria biomedica.

I sensori biomedici possono essere definiti come strumenti costituiti da un complesso di riconoscimento biologico e da un trasduttore per l'elaborazione del segnale. Il segnale che viene prodotto dal legame tra il recettore biologico e il substrato viene trasformato dal trasduttore in un segnale elettrico. In commercio sono disponibili uno svariato numero di sistemi di misura differenti per dimensioni, forma, grandezza ma tutti confrontabili con un modello generale che presenta alcune proprietà comuni. Tra i componenti che costituiscono un sensore il trasduttore rappresenta l'elemento più importante perché ha il compito di convertire la grandezza fisica in ingresso in una misura facilmente acquisibile per via elettrica. Costituisce un'interfaccia con l'ambiente biologico motivo per cui rappresenta il componente più critico dal punto di vista funzionale e tecnologico.

Infatti a differenza dei sistemi elettronici di elaborazione e memorizzazione, i quali godono di prestazioni ottime dal punto di vista di affidabilità, accuratezza, basso costo a causa del crescente sviluppo dell'ingegneria elettronica, i trasduttori sono dispositivi seppure altamente specializzati, delicati e costosi che spesso limitano le performance dello stesso sistema di misura. Lo stadio d'ingresso è costituito da un rilevatore (trasduttore di ingresso) incaricato di convertire la grandezza misurata in una grandezza facilmente elaborabile dagli stadi successivi. Lo stadio successivo è chiamato stadio di elaborazione ed è in genere costituito da un sistema elettronico composto da convertitori analogico-digitali (A/D), microprocessori con lo scopo di manipolare il segnale di ingresso attraverso opportune operazioni di filtraggio e amplificazione al fine di rimuovere eventuali interferenze e rendere il segnale ricevuto agilmente processabile dallo stadio d'uscita. Il segnale che arriva allo stadio d'uscita attraverso lo stadio di condizionamento (stadio di elaborazione) a seconda del dispositivo scelto per la presentazione dei dati ottenuti dovrà essere digitale o analogico.

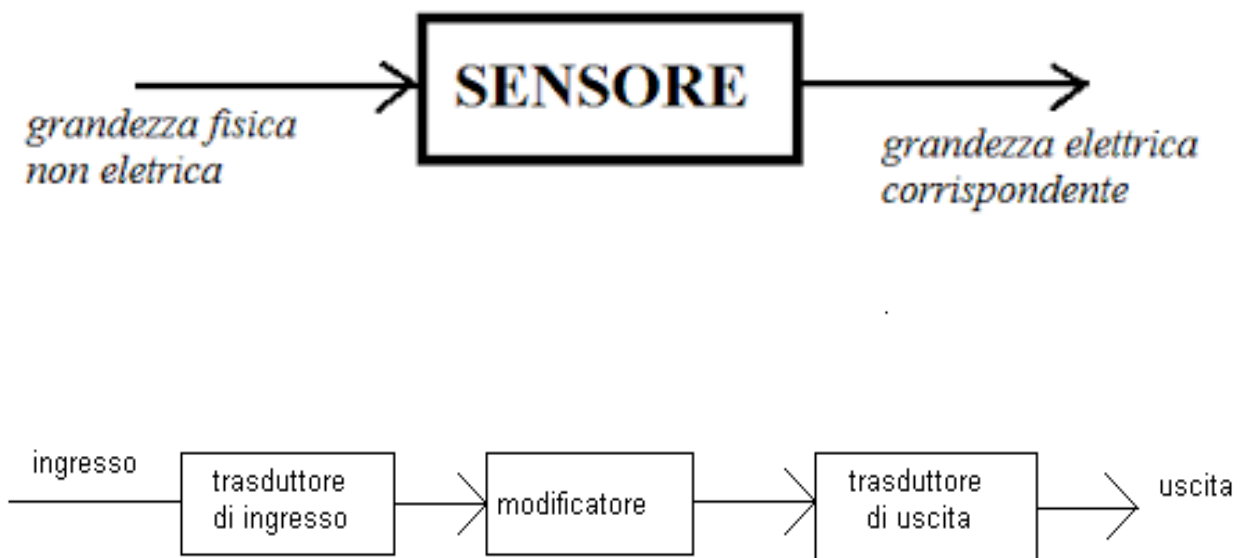
Il trasduttore d'uscita converte il segnale elettrico ricevuto in una forma compatibile con la configurazione dello stadio d'uscita selezionato. A seconda della modalità di presentazione dei risultati lo stadio di uscita potrà assumere la forma di un display, di una stampante che permettono di avere una visualizzazione istantanea dei dati oppure della memoria di un computer che fornisce invece un immagazzinamento dei dati in vista di una futura elaborazione in un secondo momento.

Quando il trasduttore di uscita viene utilizzato per eseguire una determinata azione o per mettere in azione uno strumento prende il nome di attuatore.

Negli ultimi anni grazie ai progressi dell'ingegneria sono stati progettati diversi tipi di trasduttori che utilizzano i semiconduttori e in particolare il silicio. Questi trasduttori al silicio (chiamati SMT, cioè Silicon Micro Transducers) stanno prendendo sempre più piede nelle recenti tecnologie elettroniche grazie alla possibilità di connettere il trasduttore d'ingresso con i circuiti periferici in un unico chip favorendo così una migliore praticità e una riduzione dei costi di fabbricazione.

Alcuni sensori possono presentare degli elementi aggiuntivi che permettono un miglioramento delle performance: per esempio il trasduttore d'ingresso può essere dotato di un'alimentazione esterna e di un sistema di calibrazione in grado di regolare i dati ricevuti in ingresso.

### Schema generale di un sensore



## 1.2 Suddivisione dei trasduttori

Il trasduttore è quel dispositivo incaricato di convertire la grandezza fisica rilevata all'ingresso in una misura facilmente elaborabile elettricamente. Per garantire un corretto funzionamento del dispositivo è necessario che il trasduttore d'ingresso, componente a diretto contatto con l'ambiente, mantenga le proprie proprietà e caratteristiche stabili nel tempo al mutare delle dinamiche esterne. Attualmente i trasduttori disponibili in mercato sono molti e differenti per funzionalità, costi e fabbricazione.

Una prima classificazione divide i trasduttori in *attivi* e *passivi*. Un trasduttore viene definito attivo se l'energia del segnale in uscita dal trasduttore è fornita essenzialmente da una sorgente ausiliaria esterna, monitorata dal segnale d'ingresso. L'energia in uscita dal sistema sarà dunque uguale o maggiore dell'energia di ingresso. Al contrario un trasduttore viene detto passivo quando la fonte principale d'energia è data dal segnale stesso. Essi sottraggono energia alla grandezza da convertire e misurare e di conseguenza l'energia di uscita è inferiore all'energia d'ingresso.

Un esempio di trasduttore attivo può essere il termistore perché ha bisogno di un apporto di energia da una sorgente esterna per produrre il segnale d'uscita, viceversa la termocoppia è un trasduttore passivo in quanto sfrutta la differenza tra le temperature delle giunzioni per generare una forza motrice.

I trasduttori possono anche essere catalogati in base alla *grandezza di ingresso* che consentono di misurare e convertire: si tratta di trasduttori di temperatura, pressione, velocità, accelerazione, posizione e via dicendo. Questa classificazione tuttavia risulta essere abbastanza imprecisa perché non tiene conto delle caratteristiche intrinseche strutturali del trasduttore, in compenso illustra bene la varietà dei trasduttori presenti in commercio. Un'ulteriore classificazione può essere fatta a partire dal *principio di conversione* utilizzato alla base della trasduzione, si parlerà quindi per esempio di trasduttori capacitivi, resistivi, induttivi, elettromagnetici, a effetto piezoelettrico, a effetto Hall.

Un secondo criterio di classificazione divide i trasduttori in *primari* e *secondari*.

Nei trasduttori primari la grandezza di ingresso viene convertita direttamente nella grandezza d'uscita elettrica. Nei secondari invece il segnale d'ingresso viene dapprima trasformato in un segnale intermedio, rilevabile attraverso un trasduttore primario, e quest'ultimo poi viene trasformato nel segnale d'uscita. Un'applicazione concreta che evidenzia questa differenza tra i due tipi di trasduttori è il trasduttore di pressione a diaframma. L'elemento che costituisce il trasduttore primario è il diaframma stesso che, soggetto all'applicazione di una forza esterna, esibisce uno spostamento che viene captato dal trasduttore secondario il quale produce a sua volta un'uscita di tipo elettrico.



Oltre a classificazioni operate sulla base della grandezza in ingresso, si possono suddividere i trasduttori a partire dalla *grandezza d'uscita* e dal conseguente criterio di trasduzione utilizzato. I trasduttori *analogici* sono dispositivi che producono in uscita una grandezza che, entro un dato intervallo di tempo, varia con continuità. I trasduttori *digitali* invece sono trasduttori che generano un segnale in uscita che cambia con discontinuità e ciascuno differisce dal precedente di una quantità costante. Diversamente dagli analogici il segnale digitale può assumere solo quantità discrete, ciascuna delle quali è multipla intera di un'unità di base. Tuttavia spesso molti trasduttori definiti digitali in realtà risultano essere trasduttori analogici dotati di un convertitore analogico-digitale. Poiché il trasduttore d'ingresso trasforma il segnale misurato in una grandezza fisica compatibile con lo stadio d'uscita attraverso un trasporto di energia, si possono assumere i trasduttori come dispositivi che convertono l'energia da una forma ad un'altra. Si ha quindi un'ulteriore classificazione basata sulle forme nelle quali l'energia viene convertita: energia radiante, energia elettrica, energia chimica, energia magnetica, energia termica, energia meccanica.

ATTIVI	PASSIVI
Resistenza, induttanza capacità controllate geometricamente. Meccanicoresistivo Magnetoresistivo Termoresistivo Fotoconduttivo Piezoresistivo Effetto Hall	Elettromagnetico Piezoelettrico Termoelettrico Fotoemissivo Fotovoltaico Elettrocinetico (potenziale di scorrimento) Piroelettrico

Grandezze misurabili	Trasduttori	Grandezze d'uscita
<i>Temperatura</i>	Termocoppie Resistenze al platino, termistori Trasduttori a semiconduttore	Tensione Variazione resistenza Corrente (tensione)
<i>Forza</i>	Potenzimetri, estensimetri	Variazione resistenza
<i>Pressione</i>	Trasduttori capacitivi Trasduttori piezoelettrici	Variazione capacità Tensione
<i>Posizione</i>	Potenzimetri, estensimetri	Variazione resistenza
<i>Spostamento</i>	Trasduttori capacitivi Trasformatori differenziali, Syncro Trasduttori induttivi Trasduttori ad effetto Hall Trasduttori ottici digitali	Variazione capacità Tensione Variazione induttanza Tensione
<i>Velocità</i>	Trasduttori ottici digitali Fotodiodi, fototransistor Trasduttori piezoelettrici Dinamo tachimetra Trasduttore ottico digitale	Numero impulsi Corrente (tensione) Tensione Tensione Frequenza di impulsi
<i>Intensità luminosa</i>	Fotodiodi, fototransistor Fotoresistenze Celle fotovoltaiche	Corrente (tensione) Variazione resistenza Tensione
<i>Capacità</i>	Trasduttori capacitivi	Variazione capacità

### 1.3 Proprietà generali ricercate in un trasduttore

Dopo aver descritto la struttura di un sensore e analizzato le possibili classi in cui questi dispositivi possono essere suddivisi, è bene studiare le proprietà richieste ad un sensore affinché

si possa ricavare una grandezza precisa e attendibile. Affinchè i dati misurati siano precisi bisogna identificare le possibili sorgenti di errore al fine di ridurre l'effetto distorsivo. La realizzazione di un sensore prevede quindi un'analisi preliminare delle condizioni ambientali in cui si lavora seguita da uno studio del segnale ricavato e delle possibili interferenze (es. rumore) che si possono sovrapporre al segnale stesso. Tra le proprietà che vengono propriamente attribuite ad un sensore si devono distinguere caratteristiche esterne e caratteristiche interne. Tra le caratteristiche esteriori rientrano sicuramente le *dimensioni*: le tecnologie moderne pretendono sempre di più verso la realizzazione di dispositivi di piccole dimensioni al fine di soddisfare le recenti richieste di praticità e maneggevolezza. La miniaturizzazione infatti permette di ridurre le dimensioni dei componenti che costituiscono il sensore attraverso la fusione degli elementi stessi in un dispositivo integrato. Le dimensioni ridotte permettono di evitare che il sensore in quanto componente fisico pregiudichi le proprietà del sistema e agevolano la collocazione del sensore nella zona precisa di interesse. Il rilevamento di una misura infatti è tanto più buono quanto più maneggevole è il dispositivo stesso. Altre caratteristiche importanti nella progettazione di un sensore sono la resistenza e la durata. Sono sempre più diffusi nella moderna industria biomedica trasduttori biocompatibili e biodegradabili che non danneggiano il sistema di misura stesso e l'organismo. Il dispositivo infatti, oltre a non danneggiare l'ambiente, deve poter essere riutilizzato per più misure e avere una sufficiente robustezza tale da permettergli di resistere in qualunque sistema biologico si trovi ad operare. In aggiunta alle caratteristiche esterne rivestono molta importanza anche le caratteristiche interne. Gli stadi d'ingresso e di elaborazione del segnale devono essere progettati in modo da acquisire correttamente la struttura del segnale e riconoscere le eventuali fonti di interferenza sovrapposte al segnale stesso. Per avere un elevato rapporto segnale-rumore risulta essere di fondamentale importanza apprendere le frequenze del rumore in modo da poterlo rimuovere e lasciare scorrere invariato la grandezza d'ingresso. La selettività, requisito molto importante nella progettazione di un sensore, consiste proprio nel filtrare le componenti di interferenza per tenere esclusivamente le frequenze di interesse del segnale. Se segnale e rumore hanno invece le stesse componenti in frequenza non è possibile utilizzare filtri perché produrrebbero un'alterazione delle armoniche danneggiando il segnale. Il rumore infatti costituisce un ostacolo all'accuratezza della misura e per questo deve essere assolutamente rimosso anche attraverso l'utilizzo di tecniche ausiliarie. Un'ipotesi prevede di fare una media di una serie di misure in modo da limitare il contributo dell'errore alla misura finale, oppure un'alternativa può essere l'utilizzo di una schermatura elettromagnetica. Altra proprietà fortemente ricercata nella progettazione di un sensore è la linearità. Generalmente la risposta di un sensore si rivela tanto più ottimale quanto più il suo comportamento rientra in un range

lineare. Per quanto riguarda la velocità di risposta invece un trasduttore è tanto più buono quanto più riesce ad adattare la grandezza d'uscita a un brusco cambiamento del segnale d'ingresso. Per avere un corretto funzionamento è necessario inoltre che lo strumento abbia una sensibilità il più possibile indipendente dalle condizioni ambientali, il che si traduce in una curva di calibrazione che si mantiene pressoché costante nel range di valori analizzati. Il sensore infine sarebbe opportuno avesse una capacità tale da resistere a eventuali sovraccarichi i quali potrebbero infatti danneggiare i suoi elementi arrivando spesso anche alla rottura dello strumento. Per questo motivo in prevenzione di possibili danni al sistema di misura, i trasduttori vengono sempre più frequentemente dotati di sistemi di protezione.

In conclusione nella progettazione di un sensore è generalmente difficile tenere in considerazione tutte le proprietà che un valido trasduttore dovrebbe avere soprattutto a causa di costi di fabbricazione spesso troppo alti. Nella realizzazione di un trasduttore è quindi importante selezionare le proprietà più significative per il tipo di misura che si deve eseguire. Tuttavia spesso le proprietà delle grandezze misurate sono inficiate da errori e inaccurattezze che ostacolano una corretta stima dei valori da misurare. È bene quindi operare un'attenta valutazione di limiti e imprecisioni al fine di scegliere e ideare dispositivi opportuni alle misure che si vogliono rilevare. Analizzeremo quindi qui di seguito più in dettaglio le principali caratteristiche di un sensore in statica e dinamica facendo attenzione anche alle possibili sorgenti di errore.

#### **1.4 Sorgenti di errore e calibrazione**

Per quanto possa essere accurata la rilevazione di una grandezza, nessuna misura sarà mai esatta ma risulterà inevitabilmente soggetta a un errore di misurazione più o meno grande. Dunque ogni grandezza non riproduce il valore reale di una misura ma a causa dell'incertezza da cui è affetta, costituisce solo una concreta approssimazione. Compiere un errore durante una misurazione infatti è una probabilità molto comune, diventa perciò molto importante operare un'attenta analisi degli errori al fine di raggrupparli in alcune categorie principali. Esistono principalmente due tipi di errori: errori sistematici e errori casuali.

Gli errori sistematici sono gli errori radicati nel dispositivo elettronico e presenti in ogni singola misura. Non possono essere rimossi completamente ma si può limitarne l'effetto distorsivo apportando delle modifiche allo strumento di misura. Possono dipendere da uno scorretto e impreciso utilizzo del sistema di misura, da un errore di valutazione dello sperimentatore, da distrazioni nel processo di misurazione, da errate condizioni ambientali e di lavoro. Solitamente gli errori sistematici influenzano la grandezza sotto esame nello stesso verso e di una stessa quantità.

Gli errori casuali sono causati da eventi accidentali e per questo sono incontrollabili. Hanno generalmente un'influenza minore nella rilevazione della misura rispetto agli errori sistematici in quanto possono essere limitati ripetendo la misura più volte e facendo una media aritmetica. Sono errori solitamente causati da veloci e imprevedibili oscillazioni di condizioni ambientali quali per esempio un piccolo aumento della temperatura o della pressione nell'ambiente di lavoro. Gli errori casuali mutano sia in segno che in verso, sono imprevedibili e non possono mai essere rimossi completamente. A questo scopo viene spesso messa in atto una procedura di calibrazione che consiste nella taratura dello strumento di misura. La calibrazione infatti prevede di individuare la relazione tra il valore sperimentale rilevato dal dispositivo e il valore vero attraverso un campione di misura. L'attendibilità di uno strumento di misura viene valutata calibrandolo secondo un campione di misura. È un'operazione estremamente importante perché lo strumento una volta regolato in una configurazione ottimale permette di migliorare le performance dal punto di vista dell'accuratezza e di ridurre gli errori durante il processo di misurazione in modo significativo.

### **1.5 Caratteristiche statiche e dinamiche**

Per garantire un corretto funzionamento del sensore è necessario che il trasduttore soddisfi determinate proprietà quando si trova a lavorare sia in campo statico che dinamico. La proprietà più importante da studiare nonché quella che meglio descrive il comportamento del sensore è la caratteristica di trasferimento. Per caratteristica di trasferimento si intende la relazione che lega la grandezza da misurare in ingresso e la variabile elettrica di uscita del trasduttore. Affinché si possa recuperare il valore della misura d'ingresso è necessario che il trasduttore operi nelle porzioni della caratteristica in cui ogni tensione d'uscita è legata ad un'unica grandezza d'ingresso.

Generalmente il trasduttore viene impiegato in una regione della caratteristica in cui il comportamento del sensore è il più lineare possibile in modo da garantire un rapporto di proporzionalità tra ingresso e uscita. Ne consegue che un'altra importante caratteristica assunta da un trasduttore ideale è la linearità. Il funzionamento ideale di un sensore prevede una caratteristica di tipo lineare. La linearità è quella caratteristica che mostra l'errore tra la caratteristica teorica ovvero la retta e la curva reale. Un trasduttore è lineare quando la sua caratteristica è una retta. La non linearità costituisce il valore più grande dello scostamento rispetto alla curva ideale misurato in valore assoluto e rapportato al valore più grande della grandezza in uscita. Generalmente una non linearità inferiore o uguale allo 0,1 % garantisce un buon funzionamento del sensore. Altra caratteristica importante è il range di funzionamento, ovvero il campo di valori che il sensore può ricevere in ingresso senza che questo subisca danneggiamenti o modifichi le proprie proprietà intrinseche. Rappresenta quindi l'intervallo dei

valori nel quale il sensore si trova ad operare nonché l'insieme dei valori che il segnale di trasduzione può assumere. Non appena si esce dal campo di funzionamento il sensore smette di lavorare per poi riprendere non appena si entra nuovamente nell'intervallo. All'interno del campo di lavoro si possono distinguere il range d'ingresso che stabilisce l'intervallo di variazione che può essere accettato per il segnale d'ingresso e il range d'uscita che definisce il campo di variazione permesso al segnale d'uscita.

Rientra poi tra le proprietà più importanti anche l'isteresi.

L'isteresi studia il diverso comportamento del trasduttore quando si trova sottoposto alla stessa grandezza d'ingresso la quale viene però raggiunta rispettivamente dapprima da valori crescenti e poi decrescenti. L'isteresi considera infatti la differente risposta del sensore per valori superiori e inferiori del segnale d'ingresso standard. Si calcola innanzitutto il valore dell'uscita in corrispondenza di una serie d'ingresso dapprima crescente e poi decrescente, si esegue successivamente la differenza tra l'uscita rilevata nello stadio crescente e l'uscita rilevata nello stadio decrescente in corrispondenza dello stesso segnale d'ingresso. L'isteresi non è altro che il valore massimo di tale differenza e rappresenta pertanto una forma di imprecisione nella misurazione complessiva. Un trasduttore ideale non esibisce isteresi e presenta una caratteristica univoca.

La sensibilità del trasduttore costituisce un altro importante parametro nella progettazione del sensore. Rappresenta il rapporto tra la variazione del segnale d'uscita e la variazione del segnale d'ingresso. Generalmente affinché un sensore abbia delle buone prestazioni è richiesta una grande sensibilità ovvero una piccola variazione del segnale d'ingresso deve poter generare un'importante variazione del segnale d'uscita.

Da tenere conto sicuramente nella progettazione di un buon sensore rientra sicuramente la risoluzione, ovvero la più piccola variazione del segnale d'ingresso capace di generare una variazione sensibile del segnale d'uscita. Se rapportata al segnale d'uscita, rappresenta il rapporto percentuale tra la più piccola variazione del valore d'uscita e la misura di fondo scala. Un trasduttore per garantire delle buone prestazioni deve esibire generalmente una risoluzione bassa. Un'altra importante proprietà da considerare nella scelta di un ottimo sensore è la ripetibilità, ovvero la stabilità delle proprie caratteristiche nonché la capacità del trasduttore di esibire gli stessi valori del segnale d'uscita in corrispondenza del medesimo segnale d'ingresso. Il tempo di risposta rappresenta senza dubbio un'ulteriore parametro da valutare quando si costruisce un trasduttore. Rappresenta il tempo impiegato dal sensore affinché l'uscita arrivi ad assumere il valore di regime. Altre caratteristiche strettamente legate alla qualità del funzionamento del sensore sono precisione, accuratezza e stabilità. Per precisione si intende il rapporto percentuale tra il più grande errore assoluto presente nel range di misura e il più grande

valore rilevabile. Esprime la capacità da parte del sensore di generare in uscita misure molto vicine tra loro, per un segnale d'ingresso costante, in un esperimento di molte prove ravvicinate. L'accuratezza invece è la corrispondenza delle misure rilevate rispetto ad un dato valore di riferimento. La stabilità è la capacità di mantenere costanti nel tempo le proprie proprietà. Una peculiarità importante da monitorare è l'offset ovvero il valore assunto dalla grandezza d'uscita in corrispondenza al valore nullo della grandezza d'ingresso. Altre proprietà di rilevanza minore sono per esempio il sovraccarico ovvero il valore massimo della grandezza d'ingresso che può essere accettato senza che si verifichino danni al sensore, la vita di un trasduttore intesa come il tempo massimo dopo del quale il trasduttore smette di lavorare correttamente oppure ancora la stabilità termica cioè la reazione del trasduttore ad un cambiamento improvviso di temperatura. Per riassumere, le caratteristiche statiche esprimono il rapporto ingresso/uscita del segnale di trasduzione e spiegano come le variazioni dei parametri più importanti influenzano il comportamento del trasduttore. Associati alle caratteristiche statiche ci sono tuttavia alcune tipologie di errori.

L'errore di linearità costituisce il massimo scostamento del segnale d'uscita dalla retta che meglio rappresenta la caratteristica reale.

L'errore di fuori zero (offset) è il valore assunto dalla grandezza d'uscita quando il segnale d'ingresso è nullo.

L'errore di guadagno rappresenta la differenza di guadagno o pendenza tra la caratteristica teorica del sensore e la retta che meglio definisce la caratteristica vera. L'errore di quantizzazione costituisce la più grande variazione del segnale d'ingresso che non apporta modifiche al segnale d'uscita.

Anche il fenomeno dell'isteresi può dare luogo a errori nell'arco della rilevazione dei valori d'interesse. Infatti la caratteristica del sensore appare diversa quando il segnale da rilevare è crescente rispetto a quando è decrescente. L'errore di isteresi rappresenta proprio il più grande scostamento tra l'uscita del sensore rilevata per misure crescenti e l'uscita misurata per valori decrescenti tenendo in considerazione il medesimo segnale d'ingresso.

Spesso però le caratteristiche statiche non sono sufficienti a esprimere a pieno le proprietà del sensore, bisogna quindi includere nella trattazione una serie di specifiche che valutino le performance del trasduttore rispetto a sollecitazioni che variano nel tempo. Illustrano il modo in cui il sensore reagisce alle variazioni del segnale d'ingresso. Il tempo di transizione rappresenta la velocità con cui il sensore reagisce quando l'ingresso viene sollecitato da un segnale a gradino. All'interno dell'analisi della risposta al gradino rientrano sicuramente alcuni parametri di fondamentale importanza nello studio dei sensori. La costante di tempo  $T$  descrive bene le proprietà della risposta al gradino di sistemi di trasduzione del primo ordine, in

particolare generalmente dopo un tempo  $T$  l'uscita si assesta ad un valore (63,2%) corrispondente a oltre la metà del proprio valore massimo. Il dead time è l'arco di tempo che si interpone tra la sollecitazione in ingresso data dal segnale a gradino e la comparsa delle prime conseguenze sul segnale d'uscita. Il tempo di salita invece rappresenta l'arco temporale durante il quale la grandezza d'uscita transita dal 10 al 90% del suo valore massimo. Un ulteriore parametro importante da analizzare dal punto di vista dinamico è la risposta in frequenza.

La risposta in frequenza mostra come reagisce il trasduttore quando l'ingresso viene sollecitato da un segnale sinusoidale a frequenza variabile. La rappresentazione grafica della risposta in frequenza è il diagramma di Bode del modulo e della fase della f.d.t del trasduttore in funzione della pulsazione. Quando il segnale sinusoidale in ingresso presenta una pulsazione maggiore della pulsazione di taglio del trasduttore il segnale d'uscita non riesce più a seguire il segnale d'ingresso.

## **Capitolo 2: I sensori fisici**

### **Introduzione**

Una delle più importanti funzioni svolte dai sensori è sicuramente la misurazione di variabili fisiche di interesse biologico. Spesso nella rilevazione di grandezze fisiche sono richieste apparecchiature maggiormente specifiche rispetto a quelle convenzionali adoperate su sistemi inanimati perché la complessità del sistema biologico comporta una serie di dinamiche e interazioni difficilmente analizzabili attraverso un semplice sistema di calcolo. Spesso le peculiarità dei sistemi biologici rende difficoltoso anche il prelievo delle misurazioni stesse, motivo per cui è fondamentale che gli apparecchi di strumentazione siano realizzati con l'obiettivo di eliminare possibili interferenze e di generare misurazioni il più vicino possibile al vero.

I sensori biomedici proprio per la loro peculiarità di entrare a stretto contatto con l'ambiente biologico devono essere progettati in modo da non modificare le sostanze, a volte delicate a volte aggressive, con cui vengono a contatto. Spesso necessitano di processi di miniaturizzazione al fine di rendere minima l'invasività data dall'impianto del dispositivo o di procedure di installazione particolari che garantiscono periodi di permanenza nel sistema biologico di lunga durata per esempio in condizioni croniche patologiche. Si analizzeranno in questo capitolo quindi i principali dispositivi utilizzati per lo studio delle variabili fisiche di maggior interesse biologico e se ne approfondiranno le più importanti applicazioni in campo medico.

### **2.1 I sensori di temperatura**

La temperatura rappresenta uno dei parametri più importanti nell'analisi dello stato di salute di un soggetto. È uno dei fattori sicuramente più studiati perché le sue variazioni condizionano spesso il valore di numerosi parametri di interesse medico e perché spesso un suo repentino innalzamento è indice di problemi di salute più seri. La temperatura di un paziente sano si aggira attorno ai 37 gradi e la sua regolazione è fondata su un meccanismo di retroazione che prevede una prima fase di registrazione operata dai recettori collocati sulla pelle, una seconda fase di attuazione da parte dei muscoli (responsabili della generazione e dispersione del calore) e un'ultima fase di controllo da parte dell'ipotalamo. La misurazione della temperatura a differenza di altre grandezze fisiche, non può essere rilevata direttamente ma viene misurata attraverso lo studio dei suoi effetti, per esempio la dilatazione di un liquido quale il mercurio nei classici termometri a mercurio. Le condizioni ideali nonché ottimali prevedono capacità e resistenza termica nulla in modo tale che le condizioni ambientali esterne non compromettano



la misurazione termica. Esistono diverse misurazioni termiche differenti per tipologia di rilevazione impiegata.

La misura della temperatura interna viene rilevata attraverso l'utilizzo generalmente di termometri a mercurio in siti come la cavità orale, rettale, o sotto il braccio. Tuttavia questa tipologia di strumenti seppure abbia un basso costo risulta essere spesso imprecisa, fragile nonché altamente inquinante in caso di rottura. Per questo motivo attualmente in commercio stanno prendendo sempre più piede termometri digitali che garantiscono performance migliori quanto a velocità e affidabilità. Nonostante ciò, anche i termometri digitali spesso sono fonte di errore perché i siti di rilevazione della temperatura sono spesso influenzati da interferenze che inficiano la validità delle misurazioni. Il sito più affidabile risulta essere l'orecchio in quanto la temperatura della membrana timpanica è molto simile alla temperatura interna del soggetto. La temperatura superficiale invece viene rilevata attraverso telecamere ad infrarosso costituite da sensori a semiconduttori in azoto liquido.

Infine anche la temperatura può essere misurata anche se la sua misurazione è spesso invasiva in quanto viene effettuata attraverso l'ausilio di cateteri. Gli elementi principali di un catetere sono generalmente costituiti da termocoppie o termistori anche se nell'ultimo periodo si stanno sviluppando notevolmente cateteri in fibra ottica costituiti da alexandrite che permettono di raggiungere performance ancora più buone alle temperature fisiologiche di interesse.

### **2.1.1 I trasduttori termoresistivi**

Sono trasduttori che cambiano la propria resistenza al variare della temperatura. Generalmente per la costruzione di questi sensori vengono impiegati metalli quali per esempio il platino e il nichel o semiconduttori.

Il legame tra la temperatura e la resistenza del materiale è delineato da un coefficiente termico specifico per ogni metallo o semiconduttore usato.

$$\alpha = TCR = \frac{1}{R} \left( \frac{dR}{dT} \right)$$

Un TCR positivo è indicativo di un aumento della resistenza al crescere della temperatura, viceversa se è negativo la resistenza risentirà di una decrescita man mano che la temperatura aumenta.

Generalmente vengono maggiormente utilizzati nella fabbricazione di questi dispositivi i metalli perché c'è una relazione lineare tra resistività e temperatura:

$$\rho(T) = \rho_0[1 + \alpha(T - T_0)]$$

Con  $\rho(T)$  resistività del materiale alla temperatura  $T$ ,  $\rho_0$  resistività del materiale alla temperatura  $T_0$ ,  $\alpha$  coefficiente specifico del materiale utilizzato.

Facendo uso della relazione che lega resistenza e resistività:

$$R = \rho \frac{L}{S}$$

Con  $S$  sezione,  $L$  lunghezza conduttore

L'equazione diventa:

$$R(T) = R_0[1 + \alpha(T - T_0)]$$

L'aumento della temperatura provoca anche un incremento delle dimensioni del conduttore (sezione e lunghezza) anche se molto meno significativo di quello della resistenza.

L'aumento della temperatura è responsabile di un incremento dell'agitazione termica degli atomi (aumentano le ampiezze delle oscillazioni dell'atomo attorno alla sua posizione di equilibrio) ma allo stesso tempo ostacola la mobilità degli elettroni. La resistenza segue quindi un andamento con sviluppo polinomiale del tipo:

$$R = R_0[1 + \alpha(T - T_0) + \beta(T - T_0)^2 + \gamma(T - T_0)^n]$$

Con  $R_0$  resistenza alla temperatura di riferimento  $T_0$ , che generalmente si assesta attorno ai  $0^\circ\text{C}$ , e i parametri  $\alpha, \beta, \gamma$  che assumono valori dipendenti dal materiale utilizzato per la costruzione del conduttore.

L'equazione può essere abbreviata ad un determinato grado polinomiale se la differenza tra la temperatura  $T$  e la temperatura standard  $T_0$  è piccola. Al crescere della differenza termica anche i termini di grado maggiore però iniziano ad acquisire peso.

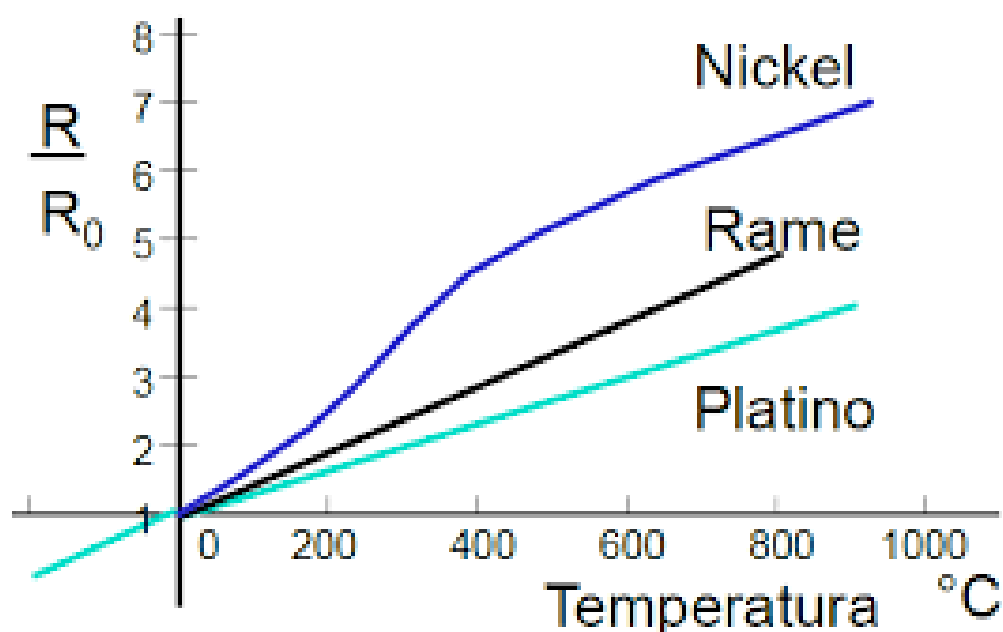
Nella fabbricazione di questi dispositivi bisogna tenere conto sia delle proprietà dei metalli utilizzati sia delle eventuali complicanze a essi associate. È importante per esempio evitare che il conduttore si riscaldi eccessivamente e controllare che le eventuali deformazioni meccaniche a cui può andare incontro il dispositivo non producano variazioni della resistenza del conduttore. È bene infatti garantire al conduttore delle buone prestazioni per quanto riguarda la sensibilità alla temperatura, l'accuratezza, la ripetibilità, l'intervallo di utilizzo e così via. Generalmente nelle applicazioni concrete dove non c'è necessità di raggiungere una precisione dettagliata e dove l'intervallo di temperature di interesse è piccolo, si può fermare lo sviluppo polinomiale al primo termine, ovvero considerando una relazione di linearità tra resistenza e temperatura.

$$R(T) = R_0[1 + \alpha(T - T_0)]$$

Tra i metalli il nichel è quello che offre la maggior sensibilità alla temperatura e basso costo anche se il suo range di linearità è piuttosto limitato.

Il platino risulta essere il migliore quanto a prestazioni di sensibilità e accuratezza ma è piuttosto costoso.

Il più economico è il rame anche se esibisce scarsa resistività, è altamente corrosivo e tossico. Tuttavia sebbene sia costoso, il platino è il materiale più usato per costruire i trasduttori termoresistivi proprio per il suo vasto range di linearità e per la sua capacità di produrre performance ottimali.



### 2.1.2 I termistori

I termistori analogamente alle termoresistenze sono sensori che variano la propria resistenza in funzione della temperatura.

Si differenziano dai trasduttori termoresistivi per il materiale con cui sono realizzati: le termoresistenze sono costituite da materiali conduttori metallici, i termistori sono invece prodotti con materiali semiconduttori.

Esistono attualmente in commercio tre diverse tipologie di termistori:

1-NTC, ovvero miscele di ossidi metallici ottenuti attraverso un processo di sinterizzazione fino a raggiungere la struttura di composti solidi simili ai semiconduttori. Esibiscono un coefficiente termico negativo, ovvero la resistenza diminuisce al crescere della temperatura.

2-PTC, ovvero miscele di titanato di bario e stronzio con coefficiente termico positivo.

3-PTC, termistori a base di silicio con coefficiente termico positivo.

Nella variazione della resistenza in funzione della temperatura oltre alla variazione delle dimensioni fisiche entrano in gioco altri fattori come per esempio il drogante e il tipo di drogatura a cui il materiale semiconduttore è soggetto. Scegliendo accuratamente il tipo di drogatura più adatto si può incrementare la sensibilità del termistore fino a valori molto simili ai conduttori metallici. Il più importante vantaggio rappresentato dai termistori è proprio la loro considerevole sensibilità, che permette di avere una notevole variazione della resistenza per un piccolo aumento di temperatura.

Un altro parametro che rende i termistori degli ottimi sensori è sicuramente rappresentato dalle piccole dimensioni dell'elemento costituente che consente di ottenere una risposta molto veloce ad ogni variazione di temperatura. Presentano inoltre una resistenza molto elevata che consente di limitare le interferenze date dalla resistenza dei fili di collegamento nella rilevazione termica. La considerevole sensibilità del trasduttore però comporta una linearità e un intervallo di lavoro piuttosto limitati. Questo è causato dal fatto che il sensore è costruito con materiale semiconduttore le cui proprietà variano considerevolmente quando la temperatura supera una soglia massima accettata, fino ad arrivare alla decalibrazione dello strumento. Generalmente le temperature massime consentite si aggirano attorno a qualche centinaio di grado Celsius.

I termistori inoltre a differenza delle termoresistenze sono più fragili, è bene perciò che non siano soggetti a impulsi meccanici eccessivi che potrebbero portare alla rottura del dispositivo. Sono dispositivi pertanto che necessitano una particolare attenzione durante il loro utilizzo.

I termistori PTC hanno coefficiente positivo, ovvero ad un incremento della temperatura corrisponde un incremento della resistenza anche se tale comportamento risulta valido solo all'interno di un dato intervallo di temperature oltre il quale lo strumento si comporta come un sensore NTC a coefficiente termico negativo. I termistori PTC sono composti da miscele di titanato di bario e stronzio con l'aggiunta di specifici droganti. Generalmente per temperature basse presentano un coefficiente negativo, mentre al di sopra di un data soglia di temperatura il coefficiente diventa positivo con un repentino cambiamento delle caratteristiche ferroelettriche e un conseguente incremento della resistenza.

Grazie alla loro capacità di incrementare notevolmente la resistenza al variare della temperatura vengono spesso usati come elementi di protezione inglobati in strutture miniaturizzate per applicazioni in campo medico e biologico. Vengono spesso utilizzati anche nei circuiti di ritardo per il loro tempo di transizione piuttosto lungo dalla condizione di resistenza modesta da quello di resistenza grande.

All'interno dei termistori PTC rientrano anche i termistori realizzati con l'utilizzo del silicio. L'utilità di questi termistori riguarda essenzialmente il principio di spreading-resistance che è alla base del sistema di rilevazione della resistenza del dispositivo. Attraverso questo metodo

la misura di resistenza rilevata non è influenzata da parametri esterni, cosicché molte delle imperfezioni costruttive legate alla fabbricazione vengono rimosse dal sensore stesso.

Ci sono poi i termistori NTC, con coefficiente termico negativo e con decremento della resistenza all'aumentare della temperatura. Sono realizzati con miscele di ossidi metallici quali per esempio ossidi di ferro, di cobalto, di nichel. Sono termistori con la peculiarità di avere una conducibilità crescente all'aumentare della temperatura perché cresce il numero delle coppie elettrone-lacuna ovvero aumentano i portatori liberi di carica. Per avere misurazioni differenti di sensibilità e resistenze al variare della temperatura è opportuno modificare i rapporti tra gli elementi costituenti il termistore. Ad ogni modo una delle proprietà di maggior rilievo dei termistori NTC è la notevole sensibilità, parametro molto utile quando si vuole ottenere un livello elevato della grandezza d'uscita su un intervallo di temperature piccolo. Un parametro molto importante da tenere sotto controllo è l'autoriscaldamento del termistore a causa della corrente di alimentazione. A questo riguardo viene spesso preso in considerazione un coefficiente di dissipazione capace di stabilire l'autoriscaldamento in funzione della potenza consumata. In conclusione i termistori NTC per la loro versatilità e per il loro basso costo vengono spesso usati nella produzione di termometri, nella supervisione della temperatura nelle produzioni industriali e anche nella fabbricazione di beni di utilizzo domestico.

In generale qualsiasi sia il termistore scelto la relazione tra resistenza e temperatura non è lineare ed è del tipo:

$$R = R_0 e^{\beta \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right)}$$

Con  $R_0$  resistenza alla temperatura  $T_0$ ,  $\beta$  temperatura caratteristica del materiale.  $\beta$  può variare da 1500 a 6000 K ed è specifico del materiale utilizzato.

Elaborando ulteriormente l'equazione sopra citata si ottiene anche il coefficiente di temperatura TCR:

$$\alpha = \frac{1}{R} \left( \frac{dR}{dT} \right) = - \frac{\beta}{T^2}$$

Nel complesso quindi l'andamento dei termistori non è lineare, tuttavia attraverso opportune modifiche si può ottenere una buona linearizzazione anche se in un intervallo di temperature limitato e a discapito di un calo della sensibilità.

### 2.1.3 Le termocoppie

Sono sensori di temperatura generalmente impiegati con temperature molto alte che hanno il vantaggio di poter produrre una tensione in uscita senza avere bisogno di una corrente di alimentazione. La proprietà cardine del loro meccanismo è rappresentata dall'effetto fotoelettrico presente quando si trovano ad interagire due metalli sono legati insieme ad

un'estremità. Ogni metallo possiede una concentrazione caratteristica degli elettroni di conduzione a causa della struttura chimica differente per ogni elemento costituente. Il metallo è comunque una sostanza neutra pertanto gli elettroni liberi per la conduzione si dovranno combinare con altrettanti ioni positivi a formare un reticolo cristallino fisso e ordinato.

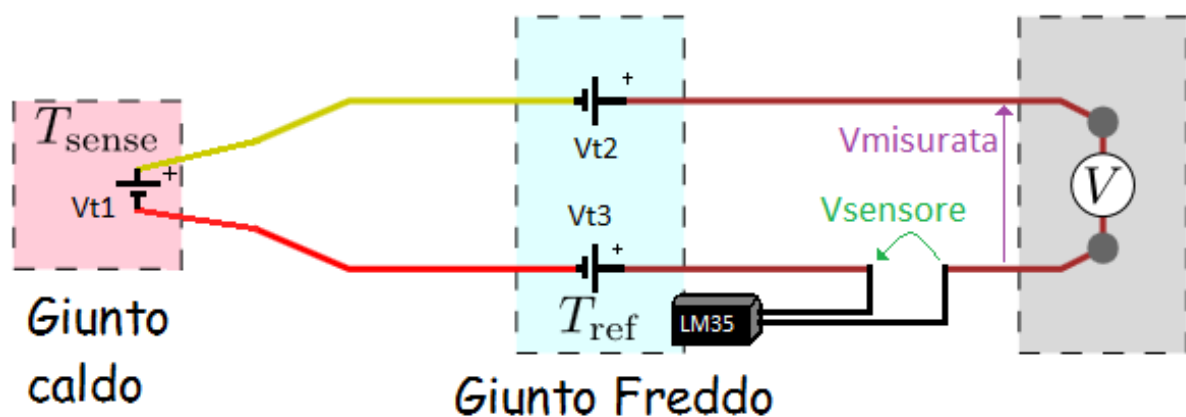
Tuttavia un incremento della temperatura con il conseguente incremento dell'energia interna della sostanza causa la rottura dei legami tra gli atomi della struttura cristallina con la conseguente formazione di elettroni liberi di conduzione. In una termocoppia le due sostanze metalliche sono assemblate attraverso un processo di saldatura in modo tale da garantire ai reticoli cristallini dei due elementi metallici una certa continuità. Spesso i due metalli posti in contatto e tenuti insieme attraverso la saldatura presentano delle concentrazioni di elettroni differenti. Gli elettroni in eccesso tenderanno quindi per diffusione spontanea a spostarsi nella regione dello spazio dove sono in difetto lasciando così la regione una volta carica di elettroni ricca di ioni positivi. A cavallo della giunzione si genera quindi un campo elettrico  $E$  tra gli elettroni liberi e gli ioni positivi. Il campo elettrico infatti esercita proprio un'azione di equilibrio andando a compensare il fenomeno di diffusione spontanea degli elettroni dalla zona dove sono in eccesso a quella di difetto. Oltre al campo elettrico a cavallo della saldatura è presente anche una differenza di potenziale dotata di segno positivo nella zona dove la concentrazione di elettroni è più grande. All'aumentare della temperatura cresce il numero di elettroni coinvolti nel processo di diffusione spontanea e quindi di conseguenza aumentano anche il campo elettrico e la differenza di potenziale. Queste proprietà vengono usate nella realizzazione delle termocoppie dove vengono messi in contatto due metalli differenti in modo tale da produrre un anello che unisce le due giunzioni ciascuna con una temperatura propria e differente dall'altra. Si viene a formare un percorso formato da un giunto caldo dove i due metalli sono posti in contatto e un giunto freddo dove invece sono separati. In corrispondenza del giunto caldo avviene la rilevazione della temperatura mentre in prossimità del giunto freddo si preleva il segnale di tensione. Per avere una rilevazione della temperatura corretta è importante tenere stabile la temperatura del giunto freddo. Questa richiesta è abbastanza difficile da mantenere perché il giunto freddo generalmente opera a temperatura ambiente e perché è composto da terminali separati tra loro.

Inoltre si vengono a creare ulteriori tensioni a causa della connessione ai terminali della termocoppia di fili di metallo diverso anch'essi fonte di differenza di potenziale e quindi responsabili di possibili alterazioni nel prelievo della temperatura.

Per ovviare a questo problema viene spesso collegata una seconda termocoppia in modo tale da generare due f.e.m. uguali e opposte. Tuttavia nonostante venga applicata questa accortezza la misura della tensione rimane ancora influenzata dalle variazioni della temperatura. A tal

proposito viene applicata una compensazione al giunto freddo, che può essere attuata in due modi differenti: compensazione hardware e compensazione software. Nella compensazione hardware un circuito specifico produce una tensione uguale a quella del giunto freddo, e questa tensione viene poi aggiunta alla tensione prodotta dalla termocoppia. Nella compensazione hardware invece viene rilevata sia la tensione prodotta dalla termocoppia che la tensione di uno specifico termistore avente temperatura uguale a quella del giunto freddo. Il progetto prevede poi attraverso un programma di compensazione di stabilire la temperatura del giunto caldo. In ogni caso affinché la compensazione produca un risultato attendibile è necessario conoscere il tipo di termocoppia usato.

#### Schema generale di una termocoppia:



#### 2.1.4 I sensori di temperatura in biomedica

I sensori di temperatura trovano diverse applicazioni in campo biomedico proprio per la loro capacità di rilevare la temperatura, parametro fondamentale nell'analisi dello stato di salute dei soggetti presi in esame.

In particolare i sensori che trovano maggior impiego nella ricerca medica sono i termistori NTC, utilizzati spesso nella realizzazione di termometri orali usa e getta. La loro struttura si compone di un film di termistore da cui si dipartono due fili conduttori inseriti in un'opportuna unità di elaborazione del segnale. Sono apparecchi generalmente usa e getta, di costo modesto e largamente usati soprattutto in ambito clinico e diagnostico.

Un altro strumento in cui trovano applicazione i sensori di temperatura è l'incubatore del reparto neonatale. Spesso i bambini nati prematuri sono affetti da problemi respiratori che riducono notevolmente la dose di ossigeno che dai polmoni passa al sangue. L'ossigeno è molto importante per il neonato perché viene impiegato nei processi metabolici come il mantenimento della temperatura corporea costante e o la digestione dei nutrienti.

L'incubatore infatti viene regolato ad una temperatura superiore alla temperatura ambiente in modo tale che il neonato usi una quantità minima di ossigeno per regolare la propria temperatura e possa utilizzare il restante ossigeno e nutrienti nei processi metabolici di crescita. Il sensore di temperatura usato nel reparto neonatale si compone di un termistore che può essere applicato o in via endovenosa o superficialmente. Il trasduttore inserito in via endovenosa è composto da una fibra semirigida a cui è applicata alla sommità terminale il termistore rivestito di un polimero con funzione di isolare termicamente l'ambiente. In genere si presenta come un buon conduttore termico e viene inserito nella cavità rettale. Per quanto riguarda la sonda che opera superficialmente, questa è costituita da un termistore discoidale. La parte che entra in contatto con la pelle del bambino è metallica mentre la superficie più esterna è rivestita di un polimero con funzione di isolare termicamente il sito biologico e ridurre le possibili interferenze dell'ambiente circostante. Il circuito di controllo consiste in un sistema elettronico rileva la temperatura dal sensore e la invia a una struttura di controllo dove mediante un'attività di monitoraggio rispetto alla temperatura ideale viene attivata la sorgente riscaldante. Sono presenti poi elementi di protezione per gestire eventuali problemi di funzionamento.

Per riassumere la termometria rappresenta senza dubbio un parametro importante nella medicina clinica perché permette di constatare eventuali stati febbrili, di controllare la termoregolazione corporea e il metabolismo energetico, di determinare il tempo di ovulazione o ancora di monitorare la circolazione periferica e le funzioni bioritmiche. Generalmente per misure non invasive vengono impiegati termometri a mercurio o termometri elettronici applicati sotto l'ascella o nella cavità orale. La rilevazione risulta molto simile anche alla misura effettuata attraverso un catetere anale, motivo per cui viene preferita rispetto a quest'ultima per la minore invasività. Se invece viene richiesta maggiore prontezza nella velocità di risposta o piccole dimensioni, per esempio in operazioni chirurgiche, la misura rettale o orale non permette di percepire le variazioni anche minime di temperatura, per questo motivo si tende ad optare per la misura esofagea. Un catetere provvisto di un sensore di temperatura viene inserito nell'esofago fino a 20 cm di profondità in modo tale da garantire una misurazione priva di perturbazioni. La migliore misurazione però risulta essere quella timpanica attraverso una termocoppia o un termistore anche se la possibilità di perforazione della membrana la rende una pratica dolorosa e poco adatta ad un uso clinico. Una misura che ottiene valori simili a



quella timpanica e che trova largo impiego soprattutto quando viene richiesta l'anestesia invece è la misura nasale. Per monitorare invece le variazioni di temperatura polmonari-arteriali si ricorre alla misura nella vescica mediante un catetere provvisto di un termistore. Questa pratica viene particolarmente usata nei soggetti anziani perché spesso la misura rettale risulta più difficile da applicare e soprattutto più scomoda.

## 2.2 I sensori di posizione

Nella ricerca biomedica conoscere il campo di spostamenti è molto importante perché permette di comprendere la meccanica delle contrazioni muscolari, la dinamica degli sforzi come l'allungamento di un tendine e i fenomeni respiratori come l'ampliamento della cassa toracica. Attualmente le misure di posizione e spostamento potrebbero anche essere effettuate attraverso sistemi computerizzati, procedure di imaging, strumenti ottici o raggi x ma presentano costi troppo elevati oltre a presentare un'alta percentuale di rischio durante il loro utilizzo.

### 2.2.1 Gli estensimetri

Sono trasduttori di posizione fondati sulla variazione della resistenza elettrica. Non presentano costi troppo elevati e sono abbastanza lineari. In quanto trasduttori resistivi hanno bisogno di un'alimentazione elettrica esterna per produrre la grandezza d'uscita. L'alimentazione può falsare il valore della grandezza d'uscita perché generalmente è associata a fenomeni di surriscaldamento. Gli estensimetri sono sensori che variano la loro resistenza quando sono soggetti a deformazioni. La resistenza elettrica per un estensimetro di sezione trasversale  $A$ , lunghezza  $l$ , resistività  $\rho$  è:

$$R = \rho * l / A$$

Se l'estensimetro è sottoposto a un carico longitudinale, ogni grandezza è soggetta a un cambiamento delle proprie dimensioni e di conseguenza anche la stessa resistenza sarà coinvolta in una variazione del proprio valore:

$$dR = \rho / A * dl + l / A * d\rho - \rho * l * dA / A^2$$

Sostituendo alle derivate la variazione  $\Delta$  si ottiene la variazione relativa della resistenza:

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{\Delta l}{l} + \frac{\Delta \rho}{\rho} - \frac{\Delta A}{A}$$

Un cambiamento di lunghezza a carico di un filo resistivo quando è soggetto all'applicazione di una forza all'interno del range di elasticità lineare può essere rappresentato dalla legge di Hooke:

$$\sigma = \frac{F}{A} = E * \epsilon = E * \frac{\Delta l}{l}$$

Con  $E$  modulo di Young,  $\sigma$  tensione meccanica,  $\epsilon$  deformazione subita.

Oltre a un cambiamento nelle dimensioni della lunghezza, il carico longitudinale può determinare un cambiamento anche della lunghezza trasversale  $t$  descritto dall'equazione:

$$\nu = -\frac{\Delta t/t}{\Delta l/l}$$

Con  $\nu$  coefficiente di Poisson. Il suo intervallo di valori per materiali omogenei è 0:0,5. L'area di un filo resistivo con sezione trasversale circolare di diametro  $D$  può essere espressa come:

$$A = \frac{\pi}{4} * D^2$$

E considerando la sua variazione:

$$\frac{\Delta A}{A} = \frac{2\Delta D}{D} = -\frac{2\nu\Delta l}{l}$$

Anche la resistività è soggetta ad un cambiamento delle proprie dimensioni, la variazione della resistività man mano che la deformazione avanza si chiama effetto piezoresistivo. In particolare la variazione di resistività è legata linearmente con la variazione di volume del filo resistivo:

$$\frac{\Delta\rho}{\rho} = C * \frac{\Delta V}{V}$$

Con  $C$  costante di Bridgman. Per i metalli il suo valore si aggira sui 1,15. Il volume di un filo resistivo di lunghezza  $l$  e di sezione circolare di diametro  $D$  è pari a:

$$V = \pi * l * \frac{D^2}{4}$$

Sfruttando l'equazione di variazione dell'area, la variazione di volume diventa:

$$\frac{\Delta V}{V} = \frac{2\Delta D}{D} + \frac{\Delta l}{l} = \frac{\Delta l}{l} * (1 - 2\nu)$$

Quando la sostanza si comporta elasticamente ed è isotropa:

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{\Delta l}{l} [1 + 2\nu + C(1 - 2\nu)] = G \frac{\Delta l}{l}$$

Con  $G$  fattore di gauge.

Per un materiale metallico la resistenza è quindi:

$$R = R_0(1 + x)$$

Con  $R_0$  resistenza iniziale quando non è applicata ancora nessuna sollecitazione,  $x=G\epsilon$

Per un materiale semiconduttore invece:

$$\frac{\Delta R}{R_0} = a\epsilon + b\epsilon^2$$

$a, b$  parametri dipendenti dal drogaggio utilizzato.

Gli estensimetri a semiconduttore hanno un effetto piezoresistivo molto forte, che dipende dal materiale e dal drogaggio usato, dalla temperatura e dal carico.

In generale gli estensimetri vantano diversi vantaggi tra cui precisione, riproducibilità, e piccole dimensioni tuttavia affinché il loro funzionamento sia ottimale è bene tenere conto di alcune accortezze. Il carico applicato non deve essere superiore alla soglia massima di comportamento elastico del metallo di cui è composto il sensore. L'estensimetro deve essere applicato attraverso un adesivo elastico sulla zona soggetta alle deformazioni che si vogliono misurare e deve essere costante nel tempo e indipendente dalla temperatura. A questo proposito variazioni di temperatura possono perturbare la resistenza anche in assenza di una sollecitazione. Sono stati ideati quindi dei sensori detti "dummy gauges" che si comportano termicamente come gli estensimetri ma senza essere soggetti a carichi meccanici e in grado di eliminare le perturbazioni causate dalla temperatura se inseriti in appositi sistemi elettronici.

### **2.2.2 Gli estensimetri in biomedica**

Gli estensimetri trovano largo utilizzo nella ricerca biomedica soprattutto quando si vogliono monitorare stati tensionali o cambiamenti strutturali. Un esempio è sicuramente la rilevazione della variazione di volume che interessa la gabbia toracica durante il fenomeno della respirazione o ancora il cambiamento di parametri fisici come per esempio la variazione della pressione plantare durante un task motorio di camminata. Anche la pletismografia costituisce un ulteriore significativo utilizzo degli estensimetri in campo biomedico. È una tecnica che consiste nel cingere l'arto d'interesse con una banda elastica provvista di estensimetri e nel monitorare la variazione di resistenza. Si può poi conoscere il cambiamento nelle dimensioni della lunghezza e conseguentemente il cambiamento di volume mediante il fattore di gauge. Per diversi anni ne è stata messa in dubbio l'accuratezza, tuttavia recenti studi hanno dimostrato come sia in realtà un metodo attendibile. Vengono anche utilizzati nella fabbricazione di piattaforme di forza per l'analisi della dinamica e cinematica delle articolazioni coinvolte in uno specifico task motorio.

### **2.2.3 I sensori capacitivi**

Sono sensori che misurano variazioni di posizione e spostamenti. Sono trasduttori passivi in quanto il loro funzionamento richiede una fonte di alimentazione esterna. L'elemento cardine è rappresentato dal condensatore, dispositivo costituito da due armature elettriche separate da un mezzo dielettrico o dal vuoto. Nello spazio tra le due piastre elettriche viene accumulata carica elettrica, la quale è strettamente legata alla differenza di potenziale  $V$  tra i due conduttori attraverso la capacità del condensatore  $C$ :

$$C = \frac{Q}{V}$$

La capacità è strettamente legata alla geometria delle armature e dal tipo di dielettrico. Noi ci occuperemo di condensatori a facce parallele ovvero costituiti da piastre piane per i quali vale:

$$C = \epsilon_0 * \epsilon_r * \frac{A}{d}$$

Dove A è l'area di ciascuna armatura piana, d è la distanza tra le piastre,  $\epsilon_0$  è la costante dielettrica nel vuoto,  $\epsilon_r$  è costante dielettrica relativa.

Ogni grandezza coinvolta nell'equazione precedente può andare incontro a variazioni della propria dimensione. Può cambiare l'area A delle armature, in questo caso le piastre possono spostarsi lateralmente mantenendo costante la distanza d e andando a lavorare sull'area d'interfaccia tra i due conduttori. In questo caso la curva che lega capacità e spostamento avrà un andamento lineare. Può variare la distanza d per esempio quando si sceglie di muovere una piastra rispetto all'altra. In questo caso la capacità è inversamente proporzionale alla distanza d e la curva che lega capacità e spostamento ha un comportamento iperbolico. Infine può esserci una variazione della costante dielettrica  $\epsilon$ . Una piastra di materiale dielettrico dotata di costante dielettrica diversa da quella del vuoto viene inserita dentro un condensatore con conduttori di dimensione fissa e distanti di un valore costante. La costante dielettrica del condensatore è influenzata da quanta regione della piastra si trova dentro i conduttori e dallo spazio occupato dall'aria. Il legame tra capacità e spostamento è di tipo lineare. In generale i trasduttori capacitivi trovano largo impiego quando si tratta di misurare piccoli spostamenti, piccole pressioni e piccole vibrazioni. Sono altamente sensibili e presentano una risoluzione e una precisione molto dettagliate.

L'assenza di contatto e la notevole stabilità della grandezza d'uscita fanno sì che i sensori capacitivi siano molto adatti sia in ambito industriale che in laboratorio. Oltre ai vantaggi appena descritti i trasduttori capacitivi presentano un'impedenza d'ingresso e una risposta in frequenza molto alte. Il loro funzionamento richiede poca energia, motivo per cui vengono detti strumenti a basso consumo energetico. Tuttavia questi sensori hanno anche qualche svantaggio che è bene tenere sotto controllo per non inficiare il funzionamento dei dispositivi. Hanno un'impedenza d'uscita elevata per la quale è necessario progettare uno specifico circuito che permetta di rilevare il segnale d'uscita in modo corretto. Il circuito d'uscita deve avere una certa potenza in modo tale che il valore dell'uscita rimanga alto. Hanno un andamento non lineare a causa degli effetti di bordo e sono dipendenti dalla temperatura. La temperatura esterna infatti influisce sul valore della capacità del trasduttore.

### 2.2.4 I sensori capacitivi in biomedica

In campo biomedico sono usati diverse modelli di trasduttori capacitivi a seconda dello specifico compito che viene richiesto. Possono venire impiegati nella rilevazione di piccoli cambiamenti volumetrici in pletismografia, nel monitoraggio delle pulsazioni vascolari e dei movimenti del cuore. Un beneficio di cui godono questi trasduttori è sicuramente l'assenza di contatto, tuttavia è molto importante soprattutto nella pratica clinica isolare il paziente dalle possibili tensioni che vengono spesso impiegate nell'alimentazione dei condensatori.

### 2.2.5 I sensori induttivi

I sensori induttivi misurano spostamenti lineari. Il cambiamento nelle dimensioni delle bobine o la variazione del flusso magnetico concatenato provocano un cambiamento nel valore dell'induttanza quando si tratta di una singola spira o della mutua induttanza quando si ha a che fare invece con due spire. A livello elettromagnetico tutti i circuiti attraversati da corrente elettrica sono in grado di generare nell'area tutta attorno un campo di induzione magnetica nel quale le linee di forza sono connesse al percorso elettrico da cui sono generate. L'induttore è una bobina che è connessa al flusso generato dalla bobina stessa. Quando l'induttore è costituito da N avvolgimenti il flusso magnetico autoinduttivo totale  $\Phi_t$  è:

$$\Phi_t = \epsilon k * \Phi_k$$

Dove  $\Phi_k$  è il flusso connesso al generico avvolgimento k.

Se nell'area adiacente al circuito è presente un materiale a permeabilità costante, il flusso totale diventa proporzionale alla corrente che lo ha generato attraverso il parametro dell'induttanza:

$$\Phi_t = I * L$$

Con L induttanza, I corrente percorsa dalla bobina.

Un altro parametro molto importante da considerare nei fenomeni induttivi è la riluttanza, ovvero la resistenza di un materiale al passaggio di un flusso magnetico. In una bobina con estensione longitudinale l molto più lunga della dimensione trasversale e con area trasversale A la riluttanza è:

$$R = \frac{1}{\mu_0 * \mu_r} * \frac{l}{A}$$

Con  $\mu_0$  permeabilità magnetica nel vuoto e  $\mu_r$  permeabilità relativa alla singola spira. Induttanza e riluttanza sono a sua volta legate da una relazione del tipo:

$$L = \frac{N^2}{R}$$

Quando le linee di forza di un campo induttivo di un circuito magnetico si concatenano alle linee di forza generate da una bobina adiacente, le due bobine vengono dette magneticamente

accoppiate. Il circuito inducente è quello attraversato dalla corrente mentre l'altro circuito viene detto indotto. In particolare il flusso totale di mutua induzione  $\Phi_{12}$  prodotto dal circuito inducente sul circuito indotto è:

$$\Phi_{12} = \epsilon_i * \Phi_{12i}$$

Dove  $\Phi_{12i}$  è il flusso generato dal circuito inducente rispetto all'avvolgimento iesimo del circuito indotto. Quando si considera l'interazione magnetica tra due bobine è quindi molto importante stabilire il coefficiente di mutua induzione M, definito come il rapporto tra il flusso totale mutuo-induttivo e la corrente che lo ha generato:

$$M = \frac{\Phi_{12}}{I_1} \text{ Oppure } M = \frac{\Phi_{21}}{I_2}$$

Il fenomeno di mutua induzione tra due bobine dipende tra l'altro da quanto queste sono distanziate tra di loro, infatti la tensione indotta sulla seconda bobina ottenuta fornendo tensione alternata alla prima bobina è influenzata dalla loro distanza.

Un'importante applicazione dei fenomeni di induzione consiste nel trasformatore differenziale. La sua struttura consiste in un avvolgimento principale, due avvolgimenti secondari e un nucleo. Le spire secondarie e primarie sono collocate in un cilindro metallico all'interno del quale può scorrere un nucleo magnetico. Le spire secondarie hanno struttura uguale ma sono disposte una in verso opposto all'altra e simmetricamente rispetto alla spira primaria. Quando la spira primaria viene alimentata da una tensione alternata e il nucleo ferromagnetico è situata al centro del cilindro e in una posizione simmetrica rispetto a ciascuna spira secondaria, la tensione di cui risentirà ogni avvolgimento secondario risulterà uguale però con segno opposto e di conseguenza il segnale d'uscita avrà valore nullo. Generalmente il nucleo magnetico non si trova in una posizione centrale, e quindi una volta alimentato l'avvolgimento primario, le spire secondarie saranno interessate dal passaggio di una corrente strettamente dipendente dal posizione del nucleo. Anche il segnale d'uscita avrà valore non nullo.

I trasformatori differenziali sono molto utilizzati perché presentano innumerevoli vantaggi. Presentano basso attrito e sono privi di contatti striscianti. Sono in grado di fornire risultati molto precisi e seguono un andamento di tipo lineare. Hanno un tempo di funzionamento piuttosto lungo, sono robusti strutturalmente e riescono a operare anche in condizioni di temperature elevate. Hanno una buona risoluzione e un'ottima accuratezza.

### **2.2.6 I sensori induttivi in biomedica**

I trasformatori induttivi vengono largamente impiegati in ambito biomedico soprattutto nel monitoraggio di importanti parametri vitali. Vengono utilizzati per controllare come alcuni organi varino di dimensione durante i processi fisiologici, per sorvegliare la respirazione dei

neonati, per monitorare come fluttuano il diametro e la portata di vene e arterie. Un esempio interessante è costituito da una coppia di bobine di ferro e carbonio collocate alle estremità della parete cardiaca e usate per rilevare le variazioni dimensionali del ventricolo sinistro in interventi a cuore aperto. Alimentando una bobina con una tensione alternata e collegando l'altro circuito ad un amplificatore viene prodotto un segnale d'uscita che dipende strettamente dalla distanza che separa le due bobine. Facendo uso poi di opportune operazioni di linearizzazione si riesce a quantificare come il volume del cuore vari durante le fasi di diastole e sistole.

Anche il trasformatore differenziale basato sempre sui trasduttori induttivi trova largamente uso in applicazioni biomediche soprattutto in sistemi di misura di forza e pressione. In particolare il primo catetere impiegato nella rilevazione della pressione sanguigna impiegava un trasformatore differenziale per rilevare la variazione di un diaframma elastico.

### **2.3 I sensori di pressione**

La pressione è una grandezza definita come il carico per unità di superficie. Può essere misurata sia in bar, cioè  $1 \frac{dine}{cm^2}$  oppure in Pascal ovvero  $1 \frac{N}{m^2}$  anche se generalmente le pressioni da un punto di vista clinico vengono misurate in mmHg. La pressione costituisce uno dei parametri fisiologici più importanti nell'analisi dello stato di salute di un paziente sia in campo diagnostico che in ambito chirurgico come per esempio in sala operatoria. La rilevazione della pressione arteriosa e venosa rappresenta un importante metro di valutazione dell'efficienza dell'apparato cardiocircolatorio perché permette di diagnosticare eventuali anomalie e di monitorare la funzionalità complessiva cardiaca. Anche la pressione intraoculare o intracraniale costituisce senz'altro un rilevante mezzo di diagnosi che consente di fare prevenzione su gravi disfunzioni o patologie. Per esempio durante un'operazione chirurgica controllare la pressione sistolica e diastolica consente di avere un quadro continuo sulla condizione fisica del paziente così come garantire un livello adeguato di pressione garantisce di avere un'ottima perfusione degli organi.

#### **2.3.1 I sensori di fibra ottica**

Un trasduttore a fibra ottica è composto da un nucleo costituito da una sostanza vetrosa avente grande indice di rifrazione e da un materiale vetroso esterno dotato di indice di rifrazione minore. Un sensore di pressione che utilizza fibre ottiche è composto da un catetere dentro il quale fluiscono due fasci di fibre che si concludono con una membrana. La luce emessa da una fonte luminosa mediante un fascio raggiunge la membrana dove viene riflessa fino a tornare indietro ad un rilevatore mediante un secondo fascio. Una fibra che fa parte del fascio emettitore si trova vicino ad una fibra del fascio ricevitore in modo che i due fasci si mescolino tra di loro.

La pressione incidente sulla membrana genera una deflessione del fascio provocando un cambiamento nell'intensità della luce riflessa. Tra i benefici di cui godono questi trasduttori rientrano sicuramente le dimensioni ridotte e l'assenza di potenziali elettrici dentro il catetere.

### **2.3.2 Metodi di rilevazione della pressione arteriosa**

La misura della pressione arteriosa rientra tra i parametri più importanti nell'analisi dello stato di salute di un paziente. La sua rilevazione può essere diretta o indiretta. Le rilevazioni dirette generalmente sono più invasive perché i sensori vengono inseriti direttamente nella superficie d'interesse. Di solito prelievi invasivi vengono richiesti in sala operatoria o in terapia intensiva quando il paziente ha bisogno di un controllo diagnostico preciso detto monitoraggio emodinamico che permetta di rilevare parametri vitali e tracce elettrocardiografiche che opportunamente analizzate consentono di delineare il quadro complessivo dell'apparato cardiocircolatorio. La tecnica invasiva è una scelta finalizzata a mantenere una certa stabilità emodinamica e una buona perfusione degli organi. Consente infatti di avere un monitoraggio continuo della pressione arteriosa e consiste nell'inserimento in un'arteria di un catetere riempito di una soluzione fisiologica. Il catetere è collegato poi ad un trasduttore esterno a membrana. Un incremento della pressione genera un incremento del flusso dentro il catetere provocando una variazione della membrana del trasduttore. Il trasduttore poi è in grado di convertire gli stimoli pressori in segnali elettrici in modo che possano essere visualizzati su display sotto forma di risultati numerici. Ci sono alcune circostanze che esigono il monitoraggio invasivo per esempio quando il soggetto non è emodinamicamente stabile, o c'è bisogno di rilevare i parametri emogasanalitici. Tra i benefici rientrano sicuramente una rilevazione in continuo della pressione arteriosa, un controllo dell'emodinamica cardiocircolatoria e un'ottimizzazione dei tempi di intervento. Tuttavia l'inserimento del catetere nell'arteria porta con sé una serie di svantaggi di entità non trascurabile tra cui eventi trombotici, emorragie e infezioni. I monitoraggi indiretti invece non richiedono un contatto diretto con l'ambiente biologico e generalmente sono leggermente meno accurati. La rilevazione della pressione non è continua ma periodica e avviene attraverso uno sfigmomanometro. Questa tecnica non fornisce informazioni su come la pressione evolve nel tempo ovvero sulla sua dinamica, motivo per cui non viene considerata adatta se sono presenti delle criticità cliniche. In particolare le tecniche indirette spesso rilevano un valore inferiore a quello effettivo della pressione sistolica e un valore superiore a quello reale per quanto riguarda la pressione diastolica.

Per quanto riguarda il monitoraggio invasivo ci sono alcuni elementi importanti che è bene analizzare, primo fra tutti il catetere intra-arterioso. I cateteri vengono introdotti in un'arteria



palpabile, generalmente quella radiale perché è facilmente identificabile, si trova in superficie, ed è una zona non particolarmente fastidiosa per il paziente. Per l'inserimento in arteria si applica il metodo percutaneo che prevede lo scorrimento di un catetere dentro una guida fino al fissaggio dello stesso catetere nella superficie d'interesse attraverso dei punti di sutura. Il cateterismo invece consiste nell'inserimento del catetere fino al cuore o arterie grandi. C'è poi il circuito di pressione, ovvero un tubo rigido e lungo con la funzione di collegare il catetere al trasduttore. La rigidità e la geometria di questo circuito sono proprietà che condizionano le performance dinamiche della struttura. Troviamo poi il dispositivo di lavaggio ovvero un contenitore che racchiude al suo interno il liquido di riempimento del catetere. È importante perché garantisce un continuo ricambio dei liquidi e evita che il flusso sanguigno possa andare incontro a reflusso con il rischio che si creino dei coaguli pericolosi per il paziente. Altro componente fondamentale all'interno del sistema catetere-trasduttore è proprio il trasduttore, strumento adibito alla conversione dell'impulso pressorio prodotto dal flusso sanguigno in una grandezza elettrica che una volta analizzata e elaborata potrà essere rappresentata su un display. Il fast flash device è invece un dispositivo che consente un veloce lavaggio della struttura al fine di eliminare eventuali tracce di coaguli sanguigni o bolle d'aria. Viene utilizzato anche per collaudare le proprietà dinamiche del sistema attraverso il fast flash test, una verifica applicabile quando il monitoraggio della pressione è attivo. Sono presenti poi i rubinetti a 3 vie, generalmente collocati tra il trasduttore e il circuito di pressione e addetti a controllare l'apertura e la chiusura del circuito così come gestire i possibili prelievi sanguigni. Infine come elemento di chiusura dell'intero circuito si trova il monitor, dispositivo elettronico sul quale vengono proiettati i valori e le proprietà rilevate dopo essere passati attraverso uno stadio dapprima di filtraggio e poi di amplificazione. A livello di funzionamento il sistema complessivo non risulta troppo complicato anche se devono essere rispettati alcuni passaggi chiave affinché la rilevazione della pressione arteriosa possa essere considerata corretta. Il catetere viene dapprima introdotto nel vaso sanguigno d'interesse dove interagisce con un'onda di flusso, generalmente pulsatile perché i vasi sanguigni maggiormente interessati da questa pratica sono le arterie, la pressione poi agente sul catetere viene trasmessa ad una colonna di fluido che a sua volta diffonde questa pressione al trasmettitore dove viene convertita in un segnale elettrico, amplificato filtrato e proiettato su un display. È importante poi considerare ulteriori accortezze affinché non si verifichino errori nelle misurazioni. Le pressioni vanno sempre misurate in mmHg, e il contributo della pressione idrostatica va rimosso per esempio effettuando le misurazioni all'altezza del cuore. Per rispettare queste richieste vanno seguiti alcuni passaggi preliminari: si parte con il lavaggio del circuito di pressione attraverso il quale vengono eliminate eventuali bolle d'aria, fonte principale di errore nel monitoraggio cardiocircolatorio.

Si prosegue poi con la calibratura che prevede il posizionamento del trasduttore all'altezza degli atri cardiaci al fine di eliminare il contributo pressorio idrostatico. Si termina infine con la verifica delle prestazioni dinamiche osservando come il sistema reagisce ad un fast flash test. Sebbene i monitoraggi invasivi conducano a risultati più attendibili rispetto a quelli ottenuti con tecniche non invasive, i metodi indiretti sono comunque molto usati perché permettono di ottenere risultati comunque validi senza passare attraverso procedure invasive. A questo scopo viene utile la sfigmomanometria, metodo inventato dal medico italiano Scipione Riva Rocci e utilizzato ancora oggi per la rilevazione indiretta della pressione arteriosa. La tecnica fa uso di uno sfigmomanometro, strumento costituito da un bracciale che viene pompato di una pressione uguale o superiore a quella dell'arteria in modo da controbilanciare la pressione del sangue. I valori pressori venivano poi rilevati attraverso una colonna di mercurio semplicemente palpando il polso negli istanti in cui si presentava la pulsazione. Un medico russo invece Nicolai Korotkoff decise di apportare delle modifiche al metodo del medico italiano: dopo aver generato con lo sfigmanometro una pressione uguale a quella arteriosa, vengono analizzate la pressione sistolica e diastolica ascoltando degli specifici suoni che piano piano si dissolvono quando il bracciale inizia a essere decompresso. Questi segnali sonori sono indice che il flusso sanguigno si sta ripristinando e vengono rilevati attraverso uno stetoscopio collocato sul gomito. Valori pressori considerati nella norma si aggirano sui 120mmHg per quanto riguarda la sistole e 80mmHg per la diastole. Misurazioni differenti da questi numeri indicano alcune patologie a carico del sistema cardiocircolatorio come per esempio una condizione ipertensiva con valori pressori superiori ai range normali. Sono patologie importanti da monitorare perché sono indice di un affaticamento del cuore. Tuttavia la sfigmomanometria manuale mostra però degli svantaggi legati alla soggettività della tecnica auscultoria, al fatto che nell'ambiente circostante potrebbero essere presenti dei rumori o al fatto che il paziente stesso potrebbe alterare la misura muovendosi per esempio e così via. Una possibilità valida è costituita dagli ultrasuoni. Vengono inseriti all'interno del bracciale due cristalli piezoelettrici: uno adibisce alla funzione di trasmettitore generando un fascio di ultrasuoni che colpisce la parete sanguigna dove viene riflesso e percepito dal secondo trasduttore. Quando la parete sanguigna è in moto il fascio ultrasonico viene traslato in frequenza, permettendo così di ricavare attraverso la comparsa e scomparsa della pulsazione la pressione diastolica e sistolica.

## **2.4 Metodi di rilevazione del flusso**

La misurazione del flusso è un altro parametro molto importante da considerare nella pratica clinica e diagnostica. Sicuramente riveste un ruolo significativo in questo campo lo studio del flusso sanguigno ma anche il monitoraggio del flusso d'aria durante per esempio i processi

respiratori rappresenta un valido indice di funzionamento dell'apparato respiratorio così come il flusso di urina può fornire informazioni sullo stato di salute della vescica e dell'apparato urinario. Il flusso può essere misurato attraverso metodi elettromagnetici che sono quelli più comunemente impiegati in quanto valutano il volume del flusso in modo indipendente dalla sua velocità. Presentano un'elevata accuratezza e possono essere utilizzati in un range di dimensioni molto esteso, dai vasi grandi fino a quelli molto piccoli. Vengono poi largamente impiegati metodi di misurazione basati sugli ultrasuoni, in particolare vengono sfruttate due importanti proprietà: la prima secondo cui la velocità del suono in un sistema in movimento è uguale alla somma della velocità del sistema e la velocità del suono, la seconda invece si avvale dell'effetto doppler per spiegare come la frequenza di un segnale ultrasonico deviato da un sistema in moto abbia una relazione lineare con la velocità del sistema stesso.

#### **2.4.1 Pletismografia ad occlusione venosa**

È una tecnica non invasiva ampiamente utilizzata in medicina clinica perché consente di misurare il flusso sanguigno nelle aree periferiche del corpo umano. Rilevare il flusso sanguigno medio in un arto per esempio consente di controllare il corretto scorrimento della circolazione periferica ma anche di riscontrare eventuali disfunzioni o ancora di monitorare il flusso sanguigno generale durante un'operazione chirurgica. Il metodo prevede l'utilizzo di due manicotti collocati all'estremità dell'arto di cui si vuole misurare la variazione di volume. Un manicotto viene pompato fino a raggiungere una pressione tale da garantire l'occlusione venosa di ritorno mentre il secondo manicotto viene pompato fino ad arrivare alla pressione di occlusione venosa e arteriosa. L'unico elemento in grado di produrre una variazione di volume è quindi il flusso arterioso d'ingresso, dato che i flussi venosi e arteriosi di uscita risultano bloccati. Il flusso arterioso d'ingresso nell'arto sarà quindi rappresentato dalla curva che traccia come il cambiamento di volume nel tempo. Ci sono diverse applicazioni che prevedono l'utilizzo di un solo manicotto. L'arto viene introdotto in un recipiente di acqua calda e su di esso viene attaccato il manicotto. Il recipiente viene riempito fino ad ottenere una pressione di poco superiore a quella venosa cosicché ci sia un'occlusione del flusso venoso mentre il flusso arteriosa possa continuare ad essere libero di fluire dentro l'arto. Durante il tempo di riempimento il flusso arterioso prosegue nel suo scorrimento dentro l'arto generando una variazione volumetrica dell'acqua che viene poi rilevata elettronicamente.

#### **2.4.2 Il metodo di diluizione di Fick**

È stato esposto per la prima volta da Fick nel 1870 e da quel momento in poi è diventato una delle tecniche cardine nella rilevazione del flusso sanguigno medio negli organi. È possibile

risalire al flusso sanguigno circolante in un organo attraverso l'utilizzo di un marcatore: è necessario conoscere quanto marcatore è contenuto all'interno dell'organo, la concentrazione del marcatore che giunge all'organo attraverso il sangue arterioso e la concentrazione del marcatore che viene liberato dall'organo attraverso il sangue venoso. Un esempio è costituito dalla rilevazione del flusso cardiaco utilizzando come marcatore l'ossigeno. La quantità di ossigeno per esempio che viene rilasciata dal polmone è uguale al flusso polmonario per la differenza arterovenosa dell'ossigeno. Di conseguenza la misura della gittata cardiaca ovvero il flusso di sangue che attraversa l'organo è uguale al rapporto tra la quantità di sostanza prelevata per unità di tempo nel nostro caso la quantità di ossigeno prelevata dal polmone  $V_{O_2}$  e la differenza di concentrazione dell'ossigeno tra il flusso venoso e arterioso:

$$GC = \frac{V_{O_2}}{(C_a - C_v)}$$

Dove  $C_a$  è la concentrazione di ossigeno nel sangue arterioso e  $C_v$  la concentrazione di ossigeno nel sangue venoso. La quantità di ossigeno a livello polmonare può essere facilmente determinata attraverso l'utilizzo di uno spirometro. Per calcolare la concentrazione di  $O_2$  nel sangue venoso e arterioso si può fare uso di un colorante ottico che viene iniettato nel flusso sanguigno e di cui poi si rileva la concentrazione. In alternativa sapendo che quasi tutto l'ossigeno circolante nel flusso sanguigno si trova legato all'emoglobina si può rilevare la quantità di emoglobina nel sangue e calcolarne la quota di saturazione. Questo metodo viene anche molto usato nell'ambito della fisiologia renale quando si è interessati al calcolo del flusso ematico renale.

### 2.4.3 Le misurazioni del flusso in biomedica

Come abbiamo già descritto in precedenza sicuramente la misurazione della portata sanguigna costituisce una delle applicazioni cliniche più importanti in ambito medico, ma anche la pletismografia e la tecnica doppler trovano largo impiego per la loro caratteristica di essere tecniche non invasive. La pletismografia consente di calcolare il flusso medio sanguigno però richiede condizioni di organizzazione particolari come la necessità di mettere il paziente supino. La tecnica doppler invece consente di fornire misurazioni immediate e riesce a rilevare flussi pulsati, anche se necessita dell'utilizzo di strumenti specifici spesso costosi. In sala operatoria durante interventi chirurgici invece vengono preferiti metodi elettromagnetici o ultrasonici. Se vengono richieste misure di lunga durata vengono invece impiegati dispositivi impiantabili o flussimetri ultrasonici. Se si vuole invece fare rilevazioni a livello del cuore vengono utilizzati cateteri affiancati da sensori di flusso.

## **Capitolo 3: I biosensori**

### **Introduzione**

La richiesta sempre maggiore di nuove tecnologie applicabili in campo clinico e la necessità di progettare dispositivi maggiormente biocompatibili ha portato allo sviluppo di biosensori. Le novità portate da questi dispositivi sono state notevoli: permettono per esempio di accorciare i lunghi tempi che caratterizzano le procedure analitiche standard e riescono spesso a sostituirsi anche a tecniche diagnostiche invasive. A livello strutturale i biosensori sono strumenti costituiti da un elemento di matrice biologica generalmente un film di forma sottile collegato ad un trasduttore. Possono essere considerati quindi come un accoppiamento tra un biorecettore di natura biologica avente il compito di riconoscere e legarsi con le sostanze con cui interagisce nell'ambiente biologico e un trasduttore che costituisce invece un sistema di elaborazione attraverso il quale le quantità e le concentrazioni delle sostanze d'interesse vengono analizzate e trasformate in un segnale elettrico. I recettori biologici usualmente sono costituiti da anticorpi, DNA, RNA o enzimi e garantiscono allo strumento complessivo performance di grande selettività in virtù della specificità delle interazioni che riescono a produrre. La novità portata da questi sensori e che li rende di straordinaria utilità è proprio la loro capacità di unire all'approccio specifico garantito dalla componente biologica l'accuratezza fornita invece dai dispositivi elettronici di calcolo. Questi dispositivi stanno lentamente cambiando il modo in cui la medicina si interfaccia ai pazienti prendendo sempre più piede soprattutto in campo clinico e andando a rimpiazzare spesso metodi analitici.

### **3.1 Caratteristiche e principali utilizzi in campo biomedico**

Sicuramente uno degli ambiti in cui i biosensori trovano maggiori applicazioni sono il campo diagnostico. Le crescenti richieste di ridurre i tempi clinici e di rendere meno laboriosi i metodi di analisi hanno permesso ai biosensori di affermarsi sempre più nella ricerca medica. Le procedure mediche attualmente usate in ambito clinico per la rilevazione di concentrazioni, parametri fisici e così via prevedono spesso prelievi invasivi e tecniche estremamente specifiche come quelle elettrochimiche o immunoenzimatiche che comportano oltre a tempi lunghi di elaborazione e preparazione anche l'ausilio di figure professionali esperte e di attrezzature costose nonché spesso voluminose. I biosensori infatti con le loro piccole dimensioni e la loro versatilità di utilizzo trovano impiego non solo in ospedale ma anche in piccoli studi medici fino a poter essere utilizzati anche a casa. Un biosensore per potersi sostituire alle procedure tradizionali di rilevazione e monitoraggio dei substrati chimici deve poter offrire innumerevoli benefici nonché soddisfare determinate richieste. Primo fra tutti il biosensore deve poter

generare in uscita una grandezza replicabile e accurata e essere dotato di una capacità risolutiva e di una sensibilità tale da permettergli di lavorare in un intervallo dinamico che comprenda tutta la variabilità dei possibili eventi clinici. Deve quindi potersi adattare ad ogni applicazione richiesta e non meno importante deve rispondere agli stimoli ricevuti con velocità e in breve tempo. Deve essere dotato di una certa robustezza strutturale in modo che non siano richieste continuamente operazioni tecniche di ricalibrazione. Deve essere indipendente da possibili cambiamenti di temperatura, non avere un costo eccessivo e avere dimensioni ridotte. Per la salute del paziente è molto importante invece che i sensori siano biocompatibili con l'ambiente con cui interagiscono e non presentino elementi di tossicità. Ci sono diversi casi clinici nei quali diventa importante l'utilizzo dei biosensori: nello screening continuo ex-vivo in pazienti sottoposti a terapia intensiva che necessitano di una struttura di controllo bed-side che possa fornire pratiche di prelievo, dialisi e così via. Generalmente viene applicato in pazienti che hanno subito un intervento di trapianto d'organo e di cui si vuole tenere sotto controllo la condizione immunologica. Per garantire la corretta somministrazione dei farmaci sarebbe infatti importante essere provvisti di un'apparecchiatura robotizzata che consenta operazioni di prelievo e monitoraggio a periodi di tempo ciclici. Un'altra applicazione importante è lo screening continuo in-vivo di cui l'esempio più importante è il diabete. Il diabete è una malattia che richiede un monitoraggio continuo dei livelli di glicemia, motivo per cui negli ultimi anni sono stati ideati dispositivi impiantabili transcutanei dotati di un monitor digitale che permette di avere informazioni a intervalli regolari di tempo sui livelli di glucosio presenti in quel determinato istante. Infine si può applicare lo screening ex-vivo e discontinuo, unica metodologia applicabile effettivamente in campo clinico nonché la sola dotata di dispositivi effettivamente presenti in commercio. Tra i principali dispositivi appartenenti a questo sistema rientrano sicuramente i sensori a DNA. Generalmente sono strumenti usa e getta, impiegati spesso nei test di gravidanza e fertilità. Permettono di avere un quadro immediato della concentrazione della sostanza di interesse e garantiscono un risparmio di tempo notevole perché tralasciano tutte quelle operazioni di analisi spesso troppo macchinose e lunghe. Tuttavia sono considerati meno attendibili rispetto ad una procedura laboratoriale perché la precisione dei risultati è influenzata dalla soggettività e dalle condizioni di lavoro. Come già accennato in precedenza solo lo screening discontinuo ex-vivo trova realmente applicazione al giorno d'oggi perché i recettori biologici sono fonte di forte instabilità. Infatti se da un lato la componente elettronica legata alla trasduzione del segnale viene progettata senza grossi problemi l'interazione dei recettori biologici con i substrati chimici può creare reazioni di instabilità. Un esempio è costituito dalle proteine, estremamente stabili nel proprio ambiente biologico, e soggette a degradazione una volta prelevate se non accuratamente conservate in un luogo adatto.

Altre caratteristiche molto importanti e strettamente legate alle interazioni con l'ambiente biologico sono per esempio l'orientamento tra superficie e recettore in modo che il legame tra i due sia quanto più vicino ad una condizione di idealità. Molto importante è anche la specificità dei legami in modo che solo le informazioni strettamente legate all'applicazione richiesta vengano rilevate, nonché la stabilità, cioè la capacità da parte dei substrati biologici di mantenere un'attività costante nel tempo. Quest'ultima proprietà spesso non viene mantenuta perché i componenti biologici dopo un certo intervallo di tempo vanno incontro a degradazione della propria struttura e funzione. Per esempio una proteina prelevata dal proprio ambiente naturale va incontro ad un'inevitabile perdita di funzionalità. Per ultimo ma non di importanza c'è la reversibilità. A parte i sensori usa e getta spesso i biosensori non riescono a rilevare le variazioni a cui la sostanza analizzata va incontro, anzi una volta utilizzati per la prima rilevazione vanno incontro a denaturazione perdendo la loro affinità con il substrato a cui erano legati. La reversibilità quindi è senza dubbio un parametro da tenere in considerazione quando si progetta un biosensore.

### **3.2 Tipologie di biosensori**

I biosensori possono essere suddivisi sia sulla base della struttura del recettore biologico sia sul sistema elettronico di trasduzione impiegato, anche se la classificazione più usata è quella operata sulla natura del componente biologico. Si possono suddividere quindi in:

- biosensori catalitici/enzimatici
- immunosensori
- sensori di DNA
- sensori che fanno uso di procedure tessutali

I più importanti in campo medico sono sicuramente biosensori catalitici e immunosensori.

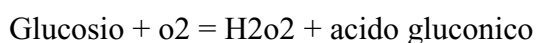
### **3.3 I biosensori catalitici**

Costituiscono la prima generazione di biosensori e la loro applicazione più importante è rappresentata dal monitoraggio dei livelli di glucosio in pazienti diabetici. L'elemento base di cui sono composti è l'enzima, molecola proteica che funge da catalizzatore in grado di accelerare la reazione chimica che sta interessando il sito biologico d'interesse. La natura tridimensionale del polimero proteico permette di ridurre l'energia di attivazione della reazione in virtù della relazione specifica che si instaura tra enzima e substrato. Le reazioni biologiche catalizzate infatti vantano una velocità nettamente superiore a quella che avrebbero se non fosse impiegato alcun tipo di catalizzatore. Gli enzimi ovviamente non vengono consumati durante

la reazione catalizzata e non modificano la stabilità chimica dell'ambiente biologico. La loro principale caratteristica è proprio quella di instaurare un legame estremamente specifico con il substrato con il quale interagiscono. Infatti sono in grado di catalizzare solo poche reazioni perché il substrato si lega agli enzimi in maniera stereospecifica. Il trasduttore è posto in contatto con una superficie enzimatica rivestita di una membrana. Il sistema così costituito viene poi introdotto nella soluzione che si vuole esaminare. Il substrato attraversa la membrana e interagisce con l'enzima. Le sostanze catalizzate giungono poi fino al trasduttore che le analizza e le converte in un segnale elettrico.

### **3.3.1 I sensori di glucosio**

Una delle più importanti applicazioni dei biosensori catalitici è sicuramente il monitoraggio del glucosio in pazienti diabetici. Secondo l'OMS circa 60 milioni di persone in Europa soffrono di diabete e secondo le recenti indagini il numero è destinato ad aumentare. Un monitoraggio in tempo reale e continuo infatti permette di prevenire possibili complicanze legate al decorso della malattia come episodi di ipoglicemia o iperglicemia. A questo scopo da anni sono presenti in commercio piccoli device, delle dimensioni di una moneta applicabili alla cute attraverso un adesivo. Sono strumenti estremamente innovativi perché possono essere indossati anche durante l'esercizio fisico, non richiedono calibrazione e possono essere usati fino a 3000 metri di altitudine. Si tratta di sensori intelligenti e per niente invasivi che permettono di monitorare continuamente il livello del glucosio. Il sensore infatti è dotato di un sistema digitale di rilevazione del glucosio interstiziale sottocutaneo che permette di visualizzare su un apposito monitor i risultati in tempo istantaneo. È un dispositivo che non prevede alcuna puntura sul dito, esegue misurazioni completamente indolori e ha un tempo di utilizzo pari a 14 giorni. Recentemente le versioni più moderne di sensore hanno introdotto anche la possibilità di impostare un segnale sonoro quando avvengono brusche variazioni della glicemia per esempio durante il sonno. Un ulteriore beneficio di questi sensori è la possibilità di condividere i valori di glicemia e gli allarmi con i familiari per esempio attraverso opportuni device di ricezione dei risultati. Questa funzione risulta particolarmente utile soprattutto per i familiari di un ragazzino diabetico o anche nel caso di pazienti anziani. A livello chimico generalmente questi sensori sono fondati sull'ossidazione del glucosio catalizzato dall'enzima glucosio-ossidasi. La reazione enzimatica finale è:



Come tutti i biosensori che interagiscono con un ambiente biologico è necessario che soddisfino determinate richieste: devono essere capaci di rilevare concentrazioni di glucosio comprese in



un intervallo che va da 40 a 360 mg/dl, devono essere estremamente specifici per il glucosio e poter garantire un periodo di risposta rapido. La risposta infatti deve essere replicabile e precisa così come indipendente dalla dinamica dei processi fisiologici, dalla temperatura e dalla concentrazione di altre sostanze biologiche.

Dal momento che sono sensori applicabili direttamente sul paziente devono essere stabili a livello chimico e meccanico e garantire prestazioni biocompatibili. Non devono presentare elementi di tossicità, devono essere di piccole dimensioni e non devono arrecare particolare disagio ai soggetti sui quali sono applicati. La biocompatibilità in particolare è una tra le richieste più importanti nella progettazione dei biosensori perché un dispositivo che non è biocompatibile può arrecare seri danni alla salute dei pazienti.

### **3.3.2 Il metodo della ionoforesi**

Spesso l'applicazione di sensori a diretto contatto con l'ambiente biologico può comportare problemi di biocompatibilità e attendibilità dei risultati. Vengono quindi impiegati metodi come la dialisi o la ionoforesi che sebbene siano piuttosto laboriose riescono comunque a garantire quell'accuratezza che spesso i sensori in vivo trascurano. Il sensore a ionoforesi sfrutta la capacità della corrente elettrica di estrarre dal derma sostanze polari e ioni. La tecnica prende il nome di elettro-osmosi e consiste proprio nel prelevare per via transcutanea il glucosio. L'apparecchio utilizzato consiste in due camere di prelievo riempite di un liquido elettrolitico. La quantità di glucosio prelevato viene poi rilevata attraverso un sensore amperometrico. Sebbene sia considerato uno strumento affidabile anche in virtù della sua non invasività, questa tecnica presenta degli svantaggi che è bene considerare. La concentrazione di glucosio prelevato non è proporzionale alla quantità di glicemia perché può dipendere anche dal metabolismo di altri nutrienti. La concentrazione di glucosio è dipendente dalla corrente che viene applicata. Possono esserci anche problemi di irritazione causati dal passaggio della corrente così come problemi legati a infezioni batteriche o funghi.

### **3.3.3 La tecnica della microdialisi**

È un metodo largamente usato nella rilevazione dei metaboliti. Per quanto riguarda il controllo della glicemia il sistema prevede di inserire in un vaso sanguigno una membrana tubolare nella quale viene fatto scorrere un fluido isotonico privo di glucosio. A causa della differenza di quantità tra il glucosio presente nel sangue e il glucosio del fluido isotonico, il glucosio sanguigno attraversa la membrana dove viene misurato da un dispositivo extra corporeo. L'apparecchio è costituito da una sonda inserita sotto cute a livello addominale. La sostanza dializzata viene poi inviata ad un macchinario extracorporeo dove viene miscelata con l'enzima

glucosio-ossidasi fino a generare H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> che viene poi rilevato da un sensore amperometrico. Il tempo di utilizzo di una sonda si aggira sulle 72 ore, dopo tale periodo sulla membrana di dialisi si sviluppa una patina di natura proteica che riduce considerevolmente la sensibilità e il tempo di risposta del complesso. Un metodo alternativo consiste in una struttura extracorporea incaricata di prelevare e dializzare una piccola frazione di sangue che viene poi reinserita nel flusso una volta terminata la rilevazione. Oppure possono essere utilizzate membrane maggiormente sottili al fine di accelerare i periodi di risposta. Sia la ionoforesi che la microdialisi costituiscono delle valide alternative ai sensori in vivo in quanto evitano l'inserimento nell'ambiente biologico dell'enzima glucosio ossidasi, considerato potenzialmente immunogenico e principale fonte di problemi di biocompatibilità. Negli ultimi anni infatti si sta cercando di potenziare queste tecnologie cercando di miniaturizzare gli strumenti di cui si servono.

### **3.4 Gli immunosensori**

Vengono detti anche sensori ad affinità. Sono fondati sulla proprietà degli anticorpi di interagire con gli antigeni. All'interno del sistema immunologico infatti gli anticorpi hanno un ruolo chiave proprio per la loro capacità di legarsi a sostanze specifiche. Sono proteine globulari. La ricerca medica poi negli ultimi anni è riuscita attraverso procedure di clonazione a generare anticorpi monoclonali in grado di interagire con qualsiasi molecola e antigene. In commercio quindi stanno iniziando ad essere prodotti immunosensori in grado di legarsi anche a molecole estremamente piccole con cui generalmente gli anticorpi non avrebbero interagito. In particolare nella risposta immunitaria gli anticorpi si legano in modo reversibile agli antigeni, tuttavia non tutto l'antigene è coinvolto nella reazione ma solo piccole regioni denominate siti antigenici. Anticorpo e antigene sono legati da un legame non covalente e le forze agenti sono ponti di idrogeno e forse di Van der Waals. Gli immunosensori possono essere suddivisi sulla base della configurazione strutturale che assumono. Ci sono gli immunosensori diretti nei quali il riconoscimento e il legame avvengono direttamente e dove l'anticorpo viene immobilizzato in una regione solida. Il riconoscimento tra antigene e anticorpo genera una variazione di parametri come capacità e potenziale. Questi cambiamenti vengono poi analizzati dal trasduttore che li traduce in un segnale elettrico. Appartengono a questa categoria i potenziometrici e i piezoelettrici. Gli immunosensori indiretti non possono essere considerati propriamente sensori perché necessitano di procedure come l'aggiunta dei reagenti e il lavaggio prima di essere messi in azione. Tuttavia vantano sistemi di trasduzione ottimi per quanto riguarda l'elaborazione del segnale. A sua volta i sensori indiretti possono essere suddivisi in competitivi e sandwich. Nei sensori competitivi l'anticorpo viene sempre bloccato

su uno spazio solido. L'interazione questa volta avviene tra un campione contenente un antigene di concentrazione sconosciuta e un antigene, di cui si conosce la concentrazione, marcato con un agente fluorescente. L'antigene marcato e l'antigene incognito competono per occupare i siti di legame con l'anticorpo. Vengono misurati i siti occupati dall'antigene marcato che viene messo appunto in competizione con l'antigene di cui non si conosce la concentrazione. Minore è il legame con l'antigene marcato maggiore sarà l'antigene presente in soluzione. Questo metodo viene generalmente applicato quando l'antigene è talmente piccolo da non riuscire a essere misurato con procedure dirette. Il marcatore generalmente è costituito da un complesso proteico coniugato con l'antigene (aptene). Negli immunosensori a sandwich invece l'antigene presenta due siti antigenici coinvolti entrambi in un legame con gli anticorpi, generando così la caratteristica struttura a sandwich in cui l'antigene si trova nella regione centrale. Infatti dopo che l'antigene si è legato all'anticorpo immobilizzato, l'anticorpo precedentemente marcato interagisce a sua volta con lo stesso antigene legandosi al suo secondo sito antigenico. Ovviamente per realizzare una struttura simile è necessario che siano presenti due anticorpi monoclonali capaci di interagire con due siti antigenici diversi posti su due regioni differenti dell'antigene, oltre che una dimensione sufficientemente grande dell'antigene tale da presentare siti antigenici diversi. Nonostante richieda un gran numero di passaggi per potersi realizzare, nonché l'intervento di personale esperto, il metodo a sandwich può incrementare la sensibilità delle misure effettuate. Per riassumere gli immunosensori sono caratterizzati dal legame anticorpo-antigene. L'anticorpo viene fissato in una superficie solida dove interagisce con la soluzione in cui è contenuto l'antigene da analizzare. L'anticorpo si lega agli antigeni in soluzione e più molecole di antigene sono presenti maggiore sarà la quantità di anticorpi legati. La quota di anticorpi legati dipende dalla quantità di antigeni in soluzione e dalla costante di dissociazione  $K_d$ . Valori piccoli di  $K_d$  comportano una maggiore affinità, ovvero un numero maggiore di anticorpi legati. Attraverso le tecniche illustrate in precedenza quindi vengono correlati il numero di anticorpi legati con il numero di anticorpi della soluzione. Tra gli immunosensori più importanti rientrano gli immunosensori ottici. Negli immunosensori ottici una guida d'onda viene messa in relazione con la soluzione in cui è presente l'antigene d'interesse. La porzione sensibile è rappresentata dalla regione in cui viene fissato l'anticorpo. La nascita del complesso antigene-anticorpo genera un cambiamento nei parametri ottici, rilevabile attraverso l'analisi della luce riflessa dalla regione sensibile. La proprietà della riflessione è strettamente legata alla specificità del legame anticorpo-antigene e all'evanescenza dell'onda incidente. L'onda evanescente che viene prodotta all'interfaccia riesce a attraversare la soluzione per pochi cm, dando informazioni esclusivamente sulla regione coinvolta dalla reazione immunologica. Il legame antigene-anticorpo infatti produce un composto dallo

spessore decisamente minore rispetto alla lunghezza d'onda dell'onda che incide all'interfaccia. Poiché la radiazione evanescente riesce a attraversare regioni di spazio poco dense si ha che il legame antigene-anticorpo può essere rivelato analizzando i cambiamenti che le costanti ottiche della radiazione riflessa subiscono. Un'applicazione degli immunosensori di notevole interesse è sicuramente la rilevazione della quantità di mioglobina nel sangue. La mioglobina è un marcatore di natura proteica il cui valore subisce un rapido incremento in caso di infarto del miocardio. Qualche ora prima dell'episodio, quando il muscolo cardiaco comincia a essere affaticato la concentrazione di mioglobina infatti inizia a salire fino ad arrivare a 25 nM. In un paziente sano la quantità di mioglobina non supera i 5nM, per questo motivo è necessario progettare un sensore dotato di un anticorpo specifico per la mioglobina, in grado di coprire un intervallo di variabilità esteso cioè da pazienti normali a soggetti con rischio di infarto.

### **3.5 I sensori a DNA**

Negli ultimi decenni i progressi avvenuti nel campo della ricerca genica hanno ricevuto un notevole impulso e hanno permesso di progettare nuove tecniche molecolari come il PCR, ovvero la replicazione di una sequenza genica oppure il sequenziamento del DNA. La diagnosi di malattie o mutazione genetica infatti può essere operata attraverso sensori composti da oligonucleotidi caratterizzati da una sequenza complementare rispetto alla sequenza malata che si deve analizzare. Questi sensori di natura genica sono anche molto utilizzati nella diagnosi di malattie tumorali grazie anche alla capacità degli acidi nucleici di andare incontro a ibridazione se necessario. I sensori DNA infatti hanno la peculiarità di avere catene specifiche di DNA o RNA capaci di legarsi con catene caratterizzate da una sequenza complementare. Il legame infatti tra catene complementari di DNA è estremamente specifico perché comporta lo sviluppo di legami a idrogeno tra basi complementari. Questi sensori sono costituiti da catene di DNA specifiche che prendono il nome di sonde, capaci appunto di interagire solo con sequenze complementari chiamate target presenti nella soluzione da analizzare. I sensori a DNA sono infatti estremamente specifici perché la sonda è molto selettiva e si accoppia a un solo target. Tuttavia si può aumentare la sensibilità di questi sensori attraverso operazioni di replicazione della sequenza di DNA. I sensori a DNA poi sono dotati di reversibilità perché una catena genica può andare incontro a ibridazione più volte. Se si vuole regolare la selettività di questi dispositivi genici si può intervenire sulla temperatura. Infatti a temperature molto elevate solo le sequenze perfettamente complementari con un appaiamento delle basi ideale restano legate invece le catene caratterizzate da legami di natura più debole si denaturano più facilmente. Inoltre risulta molto importante che le sequenze di DNA assumano una conformazione e un orientamento tali da avere un accoppiamento ottimale. I sensori a DNA proprio per la loro

versatilità trovano uso in una vastità di applicazioni, inoltre per la loro capacità di diagnosi di malattie genetiche a differenza di altri sensori non necessitano di avere periodi di risposta rapidi né strutture di particolare robustezza meccanica. Una volta i sensori a DNA avevano una struttura e un funzionamento analogo a quello degli immunosensori, ovvero veniva fissata su una regione solida una specifica sequenza di DNA e veniva rilevato il suo legame con una soluzione in cui era immersa la sequenza complementare da analizzare. In questo caso una singola catena di DNA ha poche possibilità di applicazione salvo in operazioni mirate perché bisognerebbe conoscerne preventivamente la codifica e la funzione. Erano costituiti da un trasduttore e da una regione solida in cui veniva fissata la specifica molecola nucleotidica. Il legame tra il DNA della sonda e il DNA della soluzione da studiare provoca una variazione delle proprietà ottiche e della carica elettrica, che viene rilevata e analizzata dal trasduttore. Questo sensori tuttavia ebbero vita breve perché si rivelarono essere difficilmente utilizzabili in campo pratico.

### **3.5.1 I biochip**

Recentemente con la scoperta del sequenziamento del codice genetico si è fatta sempre più strada la richiesta di poter studiare un numero sempre maggiore di sequenze geniche. Per soddisfare tale necessità sono stati progettate matrici di sensori con polinucleotidi in modo facilitare e velocizzare l'analisi del DNA. La matrice che costituisce il sensore genico è una regione solida nella quale vengono fissate le catene di DNA in posizioni differenti e secondo uno schema ordinato. Ogni porzione della superficie solida quindi ha una sonda caratterizzata da una differente sequenza. Questa matrice di sensori costituisce un sistema, chiamato biochip, capace di interagire con un numero molto grande di sequenze di DNA. È presente poi un circuito elettronico che si occupa delle operazioni di elaborazione e confronto tra le diverse sequenze di DNA prelevate. La progettazione di un biochip richiede una serie di passaggi che è bene analizzare: innanzitutto bisogna allestire la sonda. Si possono disporre una serie di catene di DNA di lunghezza corta oppure tagliare pezzi di DNA di lunghezza invece considerevole attraverso l'ausilio di enzimi. Le sequenze di DNA vengono poi fissate in regioni specifiche della superficie solida attraverso l'uso di un dispositivo robotizzato. Il DNA o RNA a seconda della funzione richiesta viene poi prelevato, tagliato in piccoli pezzi e sottoposto alla marcatura di un fluoroforo. L'RNA in particolare è soggetto a degradarsi molto facilmente dal punto di vista enzimatico, motivo per cui viene trascritto in una sequenza di DNA complementare. È necessario poi confrontare il DNA marcato con un target di riferimento questa volta marcato con un marcatore dallo spettro emissivo differente in modo da poterli distinguere. Il campione viene poi fatto reagire con il sistema di sonde. La temperatura viene tenuta generalmente bassa

per favorire l'ibridizzazione tra i target e le sequenze di DNA della matrice. Il risultato finale sarà una matrice disseminata di punti colorati a seconda delle catene nucleotidiche presenti in soluzione. Il segnale ottenuto può dopo essere trasmesso ad una telecamera dove viene visualizzato in tempo reale la matrice colorata. Ci saranno delle sonde della matrice che riescono a ibridizzarsi con le catene di DNA del target altre invece non saranno in grado di ibridizzarsi perché non troveranno la catena complementare nella soluzione. Segue poi una fase finale di elaborazione in cui vengono analizzate le impronte geniche al fine di riscontrare eventuali mutazioni genetiche o malattie.

### **3.5.2 Problemi e applicazioni dei biochip**

La progettazione dei biochip richiede innumerevoli passaggi spesso macchinosi e delicati. Il DNA infatti non può essere analizzato da un semplice prelievo del sangue ma viene richiesta una biopsia in cui le cellule prelevate vengono sottoposte a diverse manipolazioni al fine di isolare il segmento di DNA d'interesse. In particolare le quantità prelevate sono molto ridotte, motivo per cui spesso sono soggette a contaminazione o degradazione. Anche l'analisi dei dati da un punto di vista prettamente elettronico può essere causa di errore perché il codice genetico di ciascun essere umano è immenso. Per analizzare tutte le informazioni contenute nel patrimonio genetico umano servirebbero circa 1000 biochip ciascuno con 1000 sonde. Generalmente i sensori attualmente in commercio faticano a rilevare eventuali mutazioni genetiche perché il DNA è in grado di legarsi anche ad una catena non perfettamente complementare generando così un mismatch. Diagnosticare un mismatch risulta essere molto importante soprattutto nella ricerca di mutazioni genetiche in malattie come il cancro. Un modo per riconoscere un mismatch è sicuramente analizzare la temperatura, dal momento che catene perfettamente legate presentano una temperatura di denaturazione più alta. Si può quindi controllare il livello di complementarità regolando la temperatura di reazione. I biochip quindi senza dubbio sono dispositivi altamente all'avanguardia, destinati nei prossimi anni a riscuotere molto successo nell'ambito della ricerca biomedica. Tra le principali applicazioni di questi biosensori c'è il campo della diagnostica. I sensori a DNA consentono di rilevare malattie genetiche attraverso il riconoscimento di specifiche mutazioni geniche. Vengono spesso usati anche nell'ambito dell'industria farmaceutica e in particolare nella progettazione di nuovi farmaci. I batteri infatti cambiano spesso la propria forma al fine di opporre resistenza ai farmaci. Spesso nella produzione di farmaci viene analizzata la risposta dei batteri del DNA ad un trattamento antibiotico al fine di migliorare l'efficacia delle cure mediche. Vengono spesso progettate specifiche terapie sulla base di come il patrimonio genetico risponde ad una

determinata sollecitazione. Particolare rilievo assume il caso della malattia dell'AIDS: i pazienti infatti sviluppano la malattia ciascuno in modo differente, per questo motivo è importante avere un quadro della risposta genetica di ognuno di loro al fine di ottimizzare le terapie. I biochip infine trovano largo impiego anche nelle applicazioni che richiedono un confronto tra più gruppi di DNA. Spesso infatti vengono comparati materiali genetici tra persone sane e persone malate al fine di rilevare eventuali mutazioni genetiche.

**Conclusioni:**

Lo studio e la realizzazione dei sensori rappresentano senza dubbio una delle frontiere più promettenti nel campo dell'ingegneria biomedica. Le novità portate da questi dispositivi hanno consentito di compiere numerosi progressi nella ricerca e nella diagnosi di mutazioni genetiche e patologie. Costituiscono infatti un valido sostegno nelle terapie cliniche così come nel monitoraggio diagnostico per esempio durante interventi chirurgici. La loro struttura estremamente dinamica, costituita da un recettore biologico e da un trasduttore permette di unire all'interazione biologica anche un'immediata analisi elettronica dei dati rilevati. La loro versatilità di utilizzo fa sì che possano essere applicati nella misurazione di grandezze di natura diversa e la loro rapidità di risposta consente di seguire anche le variazioni improvvise a cui i segnali possono essere soggetti nel corso della misurazione. I sistemi elettronici di elaborazione poi in virtù degli sviluppi che stanno interessando l'industria elettronica permettono di ottenere risultati estremamente attendibili nonché molto accurati. Il legame che si sviluppa poi tra il recettore e l'ambiente biologico grazie ai recenti progressi fatti è molto preciso e accurato. Tra gli aspetti che sicuramente possono essere migliorati rientrano il costo spesso non così economico e l'invasività di alcuni dispositivi che fa sì che alcune terapie cliniche possano essere leggermente ingombranti o fastidiose per il paziente. Tuttavia i vantaggi che questi dispositivi riescono a dare superano di gran lunga gli svantaggi, motivo per cui rappresenteranno sicuramente il futuro della ricerca e dello sviluppo biomedico.



## **BIBLIOGRAFIA**

Cristian Secchi, “Sensori e trasduttori”. Università degli Studi di Modena (2005)

Italo Gorini, “Le misurazioni tramite trasduttori con uscita elettrica”. Università degli Studi di Firenze.

Andrea Spanu, “Misure in ambito biomedico”. Università degli Studi di Cagliari.

Natan Porcu, “I trasduttori: storia, caratteristiche e progettazione”. Università degli Studi di Pisa.

Zanichelli, “Errori di misura”.

Nicola Vitti, “Sensori di temperatura”. Politecnico di Bari (2004/2005)

Alberto Picco, “Analisi sui sensori: i sensori di temperatura”. Università degli Studi di Padova (2009/2010)

A.L: Lucifredi, “Capacitive transducers”. Università degli Studi di Genova

Davide Iannuzzi, “Sviluppo di un programma in Matlab per la valutazione delle prestazioni dinamiche dei sistemi catetere-trasduttore di pressione”. Università degli Studi di Bologna (2012/2013)

M. Montagnana, G. Lippi, “Automonitoraggio glicemico nei pazienti diabetici”. La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio.

G. Palleschi “Biosensori in medicina”. Università degli Studi di Roma.

M.Messina, S. Petralia, “Biosensori: progressi e applicazioni in clinica diagnostica”.

D. De Rossi, A. Mazzoldi, D. Pedè, E. Scilingo, “Sensori per misure biomediche”.

SR Weinberger, TS Morris, M Pawlak, “Recent trends in protein biochip technology”.  
Pharmagenomics 2000

M: Aydin, EB Aydin, MK Sezginurk, “Advances in immunosensor technology”. Advances in  
Clinical Chemistry.

Andrea Zanobini, “Fondamenti sui sensori”, (2002)

A. Laurenzi, P. Di Bartolo, A. Maran, E. Bosi “Le nuove tecnologie nella gestione e nel  
trattamento del diabete di tipo 1: i sensori del glucosio”.