

AOSR-TEAMS II 2023 – 2024

Domeniul Științific: Științe fizice

**RAPORT TEHNICO-ȘTIINTIFIC INTERMEDIAR I**

afereznt proiectului de cercetare intitulat

**DEZVOLTAREA UNUI SENZOR PLASMONIC CU FIBRĂ OPTICĂ  
INTELIGENT PENTRU DETECȚIA CORONAVIRUSULUI SARS-COV-2**

realizat de

**Director proiect: Iulia ANTOHE**

**Membru echipă: Bianca-Giorgiana ȘOLOMONEA**

01/04 – 31/07, 2023

**Cuprins:**

1. Introducere .....	2
2. Resurse și materiale .....	3
3. Rezultate și discuții .....	3
4. Diseminarea rezultatelor obținute (01/04 – 31/07, 2023) .....	8
5. Referințe .....	9

București, 26/07/2023

# DEZVOLTAREA UNUI SENZOR PLASMONIC CU FIBRĂ OPTICĂ INTELIGENT PENTRU DETECȚIA CORONAVIRUSULUI SARS-COV-2

## 1. Introducere

Coronavirusul sindromului respirator acut sever 2 (SARS-CoV-2) este un virus cu genom ARN, responsabil pentru izbucnirea pandemiei de boală respiratorie acută denumită COVID-19, și care a provocat până acum peste 68200 în România ([worldometers.info/coronavirus](http://worldometers.info/coronavirus)). Boala extrem de contagioasă este caracterizată prin simptomatologie predominant respiratorie (febră, tuse, dificultăți de respirație) și poate avea manifestări cu evoluție către detresă respiratorie acută, principala cauză de mortalitate [1]. Cheia pentru prevenirea și controlul focarului de SARS-cov-2 este blocarea transmiterii infecției printr-o politică strictă de carantină. În acest context, *o metodă de diagnostic rapidă, sensibilă, specifică și inteligentă este esențială pentru ca pacienții suspecți să poată fi corect evaluați și tratați* [2].

În prezent, metodele principale de diagnostic a infecției cu COVID-19 sunt: (i) *testarea serologică* prin care se depistează anticorpii produși de organism ca răspuns la infecția virală și (ii) *recunoașterea moleculară* care identifică materialul genetic al virusului [3]. Testele serologice evidențiază anticorpii specifici SARS-CoV-2 de tip IgM și IgG. Detecția anticorpilor specifici anti SARS-CoV-2 de tip IgM va permite evidențierea infecțiilor acute, însă cu un interval de timp de latență (minim 7 zile post-infecție), față de detecția acidului nucleic viral. Cultura celulară, testul imunosorbent legat de enzimă (ELISA) sau reacția de polimerizare în lanț cu revers-transcriptază (RT-PCR) sunt unele dintre metodele convenționale utilizate pentru diagnosticarea infecției cu SARS-CoV-2 [4]. Cu toate acestea, conform unor rapoarte anterioare, majoritatea acestor metode necesită reactivi și echipamente scumpe, timp lung de procesare, precum și personal bine instruit [5]. Prin urmare, este avantajos să se investigheze amănunțit pacienții suspecți printr-un alt sistem de diagnosticare fiabil. În acest context, biosenzorii optici sunt ideali pentru a oferi o soluție alternativă și fiabilă pentru diagnosticul clinic, detectarea în timp real și monitorizarea continuă [6].

Printre diferitele tehnici de biodetecție, sistemele cu fibră optică care se bazează pe fenomenul de rezonanță a plasmonilor de suprafață (FO-SPR) sunt aplicabile diferitelor clase de analiți de interes clinic [7]. SPR este una dintre cele mai avansate tehnologii de detecție în timp real, fără etichetare, care oferă informații despre cuantificarea moleculei țintă și cinetica biomoleculară [8,9]. Recent, cuplarea fenomenului SPR la tehnologia fibrei optice (FO) a declanșat progrese notabile în domeniu, oferind avantaje atractive față de platformele tradiționale SPR bazate pe prizme, cum ar fi simplitatea, portabilitatea, rentabilitatea și miniaturizarea [10]. În tehnologia FO-SPR, prisma este înlocuită cu o fibră optică acoperită cu metal care servește drept ghid de undă pentru lumina incidentă. În acest caz, interfața plasmonică este activată la expunerea acestor fibre optice la mediul dielectric dorit. De remarcat, biosenzorii FO-SPR prezintă și alte caracteristici interesante: capacitate de multiplexare, posibilitatea de îmbunătățire a sensibilității prin încorporarea diferitelor

nanomateriale în bioteste, precum și capacitatea de face măsurători la fața locului, eventual în combinație cu instrumente suplimentare [11]. Prin urmare, biosenzorul FO-SPR este un candidat ideal pentru detecția în timp real și fără etichetare a analiților la scară nanometrică, fiind de asemenea o tehnologie interesantă pentru detecția SARS-CoV-2.

*În acest proiect, propunem așadar validarea unei platforme de detecție point-of-care (POC) bazată pe tehnologia FO-SPR ([youtube.com/INFLPR\\_FO-SPR](https://www.youtube.com/INFLPR_FO-SPR)), capabilă să ofere un diagnostic precis și rapid în cazul de infectare cu COVID-19, fără a necesita echipamente complexe și foarte costisitoare. Senzorul FO-SPR acoperit cu Au va fi funcționalizat cu aptameri (secvențe scurte de oligonucleotide monocatenare) specifici pentru captarea glicoproteinei spike SARS-CoV-2. Acest proces, pe lângă faptul că este monitorizat în timp real pentru un diagnostic rapid, va permite și cuantificarea glicoproteinei spike SARS-CoV-2 din probă. Mai mult, prin construirea unui software adecvat, folosirea unor algoritmi de colectare și procesare a datelor și integrarea analizei statistice pentru generare de soluții analitice, vom transforma senzorul FO-SPR într-unul inteligent.*

SARS-COV-2 a fost ales ca model de biotest pentru că este de actualitate și pentru că avem experiență de lucru cu acesta, dar această tehnologie poate fi folosită în viitor pentru identificarea diverșilor viruși.

## 2. Resurse și materiale

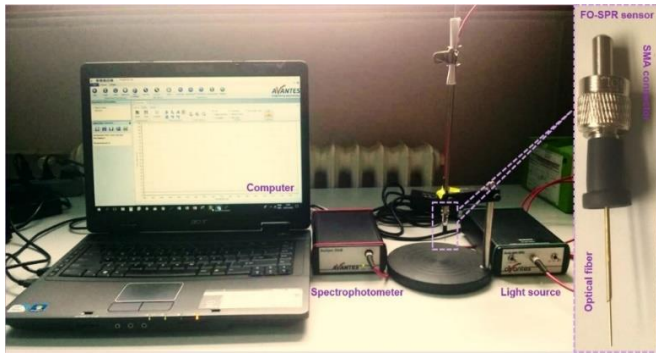
Munca de cercetare din cadrul primei etape a acestui proiect s-a desfășurat în cadrul grupului „Lasere în domeniul științelor vieții, mediu și producție” (LLASEM), al Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Fizica Laserilor, Plasmei și Radiației (INFLPR), România, de către directorul de proiect Iulia Antohe, împreună cu membrul echipei Bianca-Giorgiana Șolomonea. Întreaga infrastructură a institutului INFLPR a fost și va fi disponibilă pentru dezvoltarea proiectului. Toate chimicalele, bio-reagenții și materialele sunt de calitate superioară și au fost comandate. Până în prezent nu au sosit toate în laborator.

## 3. Rezultate și discuții

### **Etapa 1 → Aprilie – Iulie, 2023. Optimizarea platformei de detecție FO-SPR**

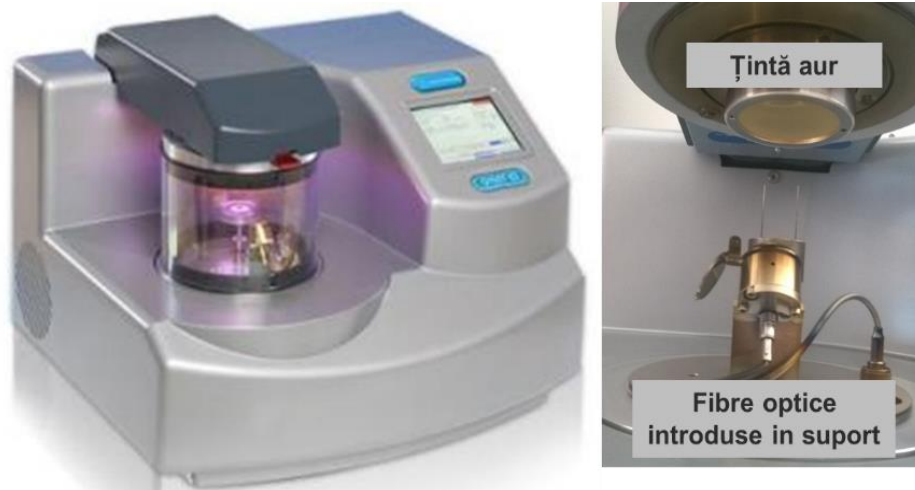
#### **Activitatea 1.1. Fabricarea senzorilor FO-SPR acoperiți cu aur și determinarea indicatorilor de performanță a întregului sistem de detecție**

Sistemul de detecție FO-SPR (vezi *Figura 1*) cuprinde concret următoarele componente: (1) o sursă de lumină cu halogen, (2) un spectrofotometru UV-Vis, (3) un senzor interschimbabil FO-SPR introdus într-un conector de tip SMA și (4) un braț robotic controlat de calculator pentru a deplasa senzorul FO-SPR dintr-un recipient care conține proba de analizat, într-altul. Lumina care trece prin zona activă a senzorului FO-SPR este reflectată înapoi la vârful acestuia și măsurată cu ajutorul spectrofotometrului. Interacțiile moleculare care au loc la interfața plasmonică (eg. interacția dintre un anticorp și antigenul specific) conduc la o schimbare a semnalului SPR (eg. modificarea poziției lungimii de undă SPR inițială), ce poate fi mai departe monitorizată în timp real, obținându-se astfel o senzogramă.



**Figura 1.** Sistemul de detecție FO-SPR dezvoltat. În stânga este prezentată o imagine mărită a senzorului FO-SPR fixat într-un connector SMA. Acest sistem cuprinde următoarele componente: (1) o sursă de lumină cu halogen, (2) un spectrofotometru UV-Vis și (3) un senzor interschimbabil FO-SPR introdus într-un conector de tip SMA.

Senzorii au fabricați prin tăierea unei fibre optice (FO) comerciale, îndepărtarea jachetei și a materialului polimeric pe o porțiune de 0.5 cm și acoperirea acestei zone cu un strat subțire de aur folosind un sistem de pulverizare catodică în plasmă (magnetron sputtering), ca cel din *Figura 2*.



**Figura 2.** Imagine cu sistemul de pulverizare catodică în plasmă și a incintei acestuia. Se observă ca ținta de aur este montată sus iar jos sunt suportul rotativ cu FO și cristalul de cuarț pentru monitorizarea grosimii filmului de aur.

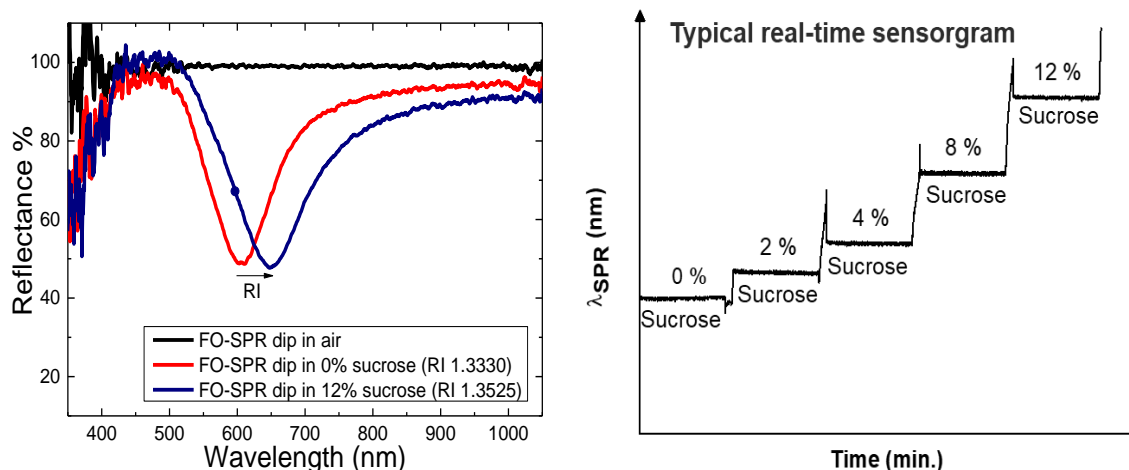
Sensibilitatea ( $S$ ) și figura de merit ( $FOM$ ) sunt doi dintre indicatorii de performanță a senzorului FO-SPR ce au fost determinați. Sensibilitatea senzorului FO-SPR a fost testată prin efectuarea măsurătorilor de indice de refracție (RI) în diluții de sucroză (0, 2, 4, 8, 12% g/g). Valorile RI pentru cele cinci diluții de sucroză sunt trecute în *Tabelul 1*.

**Tabel 1:** Valorile indicelui de refracție pentru diverse diluții de sucroză (0% este apa deionizată).

Concentrație sucroză (%)	Indice de refracție - RI
0	1.3330
2	1.3359
4	1.3388
8	1.3447
12	1.3525

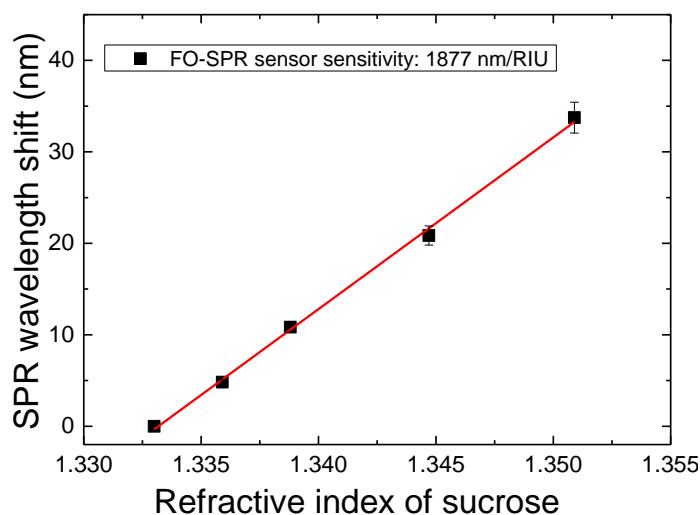
În cazul senzorilor FO-SPR sensibilitatea este exprimată ca fiind raportul dintre modificarea poziției lungimii de undă SPR ( $\Delta\lambda_{SPR}$ ) și schimbarea RI din soluția de analizat ( $\Delta n$ ):  $S = \Delta\lambda_{SPR}/\Delta n$  [nm/RIU].

Sensibilitatea este determinată așadar prin reprezentarea deplasărilor lungimii de undă SPR în funcție de valorile RI ale fiecărei soluții de sucroză (vezi Figura 3), urmată de fitarea liniară a curbei de calibrare obținute (vezi Figura 4).



**Figura 3.** Evaluarea sensibilității sensorului FO-SPR. Exemplu de dipuri spectrale SPR obținute în apă și în soluție de sucroză 12%, cu indice de refracție (RI) diferit. Un RI mai mare deplasează spre roșu dipul spectral SPR. În stânga este o senzogramă tipică obținută în timp real, care arată deplasarea poziției dipului SPR în timp pentru fiecare soluție de sucroză. Sensorul FO-SPR a fost ținut un minut în fiecare soluție de sucroză, volumul soluției analizate fiind 200  $\mu$ L.

Valoarea sensibilității sensorului FO-SPR acoperit cu aur este dată de panta curbei de calibrare și este  $S = 1877 \text{ nm/RIU}$ . Având în vedere că valoarea sensibilității sensorului are o valoare similară cu cea obținută în literatură (între 1600-1800 nm/RIU), întregul dispozitiv FO-SPR poate fi utilizat în diverse aplicații.



**Figura 4.** Curba de calibrare corespunzătoare obținută cu ajutorul măsurătorilor în diluțiile de sucroză. Barele de erori reprezintă deviația standard pentru 5 FO. Valoarea sensibilității sensorului FO-SPR este dată de panta curbei de calibrare și este 1877 nm/RIU.

Figura de merit (*FOM*) în cazul senzorilor FO-SPR este exprimată ca fiind raportul dintre sensibilitate (*S*) și Lățimea la semiînălțime (Full width at half maximum -*FWHM*) a dip-ului SPR:  $FOM = S/FWHM [RIU]$ . Pentru calcularea automată a *FWHM* a fost creat un program în Origin. În cazul senzorilor FO-SPR acoperiți cu aur avem un **FOM = 19 RIU**.

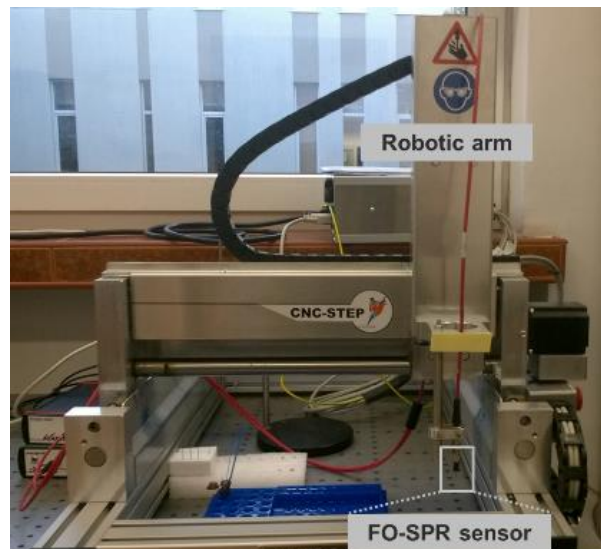
### Activitatea 1.2. Îmbunătățirea programelor de software pentru sistemul FO-SPR

În paralel cu determinarea indicatorilor de performanță a senzorilor FO-SPR au fost create două scripturi de software:

- a) pentru controlul automat al brațului robotic încorporat dispozitivului CNC (vezi *Figura 5*). Programul în G-code pentru software-ul ColiDrive permite mișcarea cu o anumită viteză (*F* în mm/min) a senzorului pe axele X, Y, Z, și astfel acesta poate fi poziționat în recipientele cu probele de analizat și lăsat un anumit timp (*H* în sec.) în funcție de aplicație. Directorul de proiect are expertiză cu programul în G-code.

#### **Exemplu de program în G-code:**

```
%prog  
G90 G17  
T1 M6  
G01 X0 Y0 Z0 F1000  
G01 X0 Y101 Z0 F1000  
G01 X72 Y101 Z0 F1000  
G01 X72 Y101 Z-79 F1000  
G4 H10  
G01 X72 Y101 Z-79 F1000  
G01 X72 Y101 Z0 F1000  
G01 X72 Y0 Z0 F1000  
G01 X0 Y0 Z0 F1000
```



**Figura 5.** Imagine a dispozitivul CNC cu brațul robotic controlat de calculator printr-un program în G-code. Senzorul FO-SPR este fixat de brațul robotic și mutat automat dintr-un recipient cu proba de analizat într-altul, în funcție de aplicația dorită a fi implementată.

- b) pentru monitorizarea în timp real a poziției dipului spectral SPR și procesarea de date. În acest sens a fost folosită gândirea algoritmică și a fost conceput un program care să achiziționeze și să prelucreze datele în timp real. B.G. Șolomonea și I. Antohe au lucrat la optimizarea acestui program în Labview și R (vezi *Figura 6* și *Figura 7*).

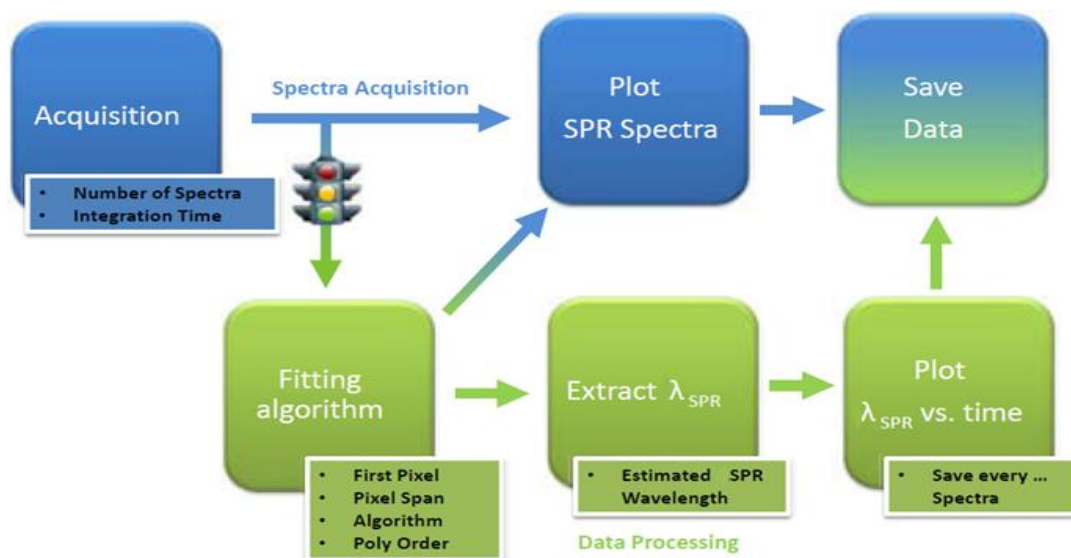


Figura 6. Diagramă schematică care ilustrează logica programului în Labview.

În Figura 6 este ilustrată schema logică implementată în Labview pentru achiziția și prelucrarea datelor. În primă fază ne folosim de spectrofotometru pentru a achiziționa un spectru. Astfel, acesta este setat să primească timpul de integrare dorit și numărul de spectre acumulate pentru o singură achiziție. Spectrele SPR astfel acumulate sunt apoi reprezentate grafic automat, așa cum apare și în print-screenul interfeței aplicației din Figura 7, putând fi apoi salvate dacă este necesar.

În a doua fază se inițiază algoritmului de fitare, spectrul SPR obținut fiind fitat polinomial. În urma fitării polinomiale, poziția dipului spectral SPR este extrasă și reprezentată grafic în funcție de timp, obținând în final o senzogramă.

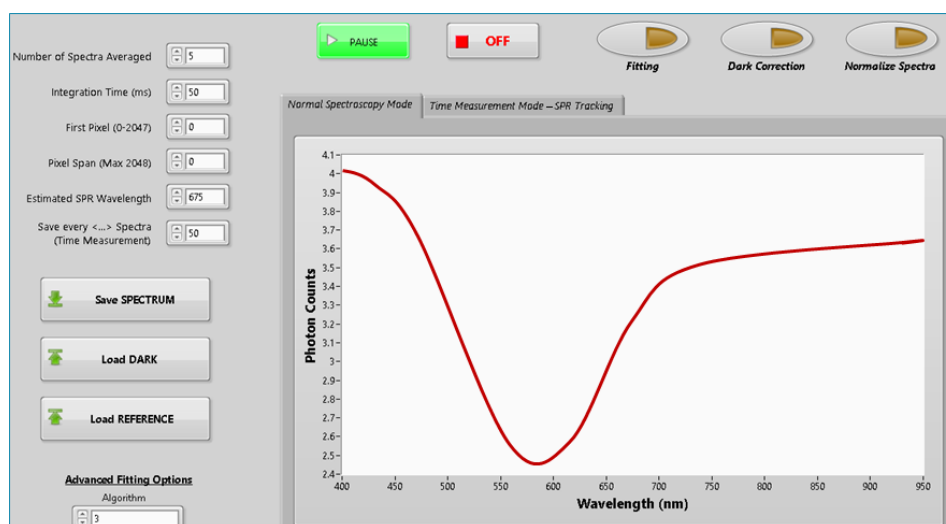


Figura 7. Print-screen a interfeței aplicației dezvoltate în Labview pentru monitorizarea dipului SPR.

În prima etapă a proiectului (**Etapa 1**) directorul de proiect a îndeplinit sarcinile de cercetare prevăzute la Activitatea 1.1 și a colaborat cu B.G. Șolomonea pentru dezvoltarea/ optimizarea celor două programe de software menționate la Activitatea 1.2. Toate livrabilele promise în această etapă au fost îndeplinite cu succes.

#### 4. Diseminarea rezultatelor obținute (01/10 – 03/12, 2021)

Diseminarea rezultatelor obținute s-a făcut prin: (i) participarea la cinci conferințe naționale și internaționale (cu recunoașterea sprijinului acordat de AOSR); (ii) prin trimiterea spre publicare a unui articol, într-un jurnal cotate ISI (cu includerea afilierii AOSR și recunoașterea sprijinului acordat de AOSR); prin întocmirea acestui raport științific trimis la AOSR până pe 31.07.2023; precum și prin (iii) alte acțiuni de popularizare:

##### Conferințe naționale și internaționale:

- 1) **Antohe I., Șolomonea B.G.,** și Socol G. *Towards Smart SARS-CoV-2 Detection Using a Plasmonic Sensor*, NanoBioMat 29 iunie 2023, România (prezentare poster)
- 2) Popa A., Stochioiu A., Toderașcu L., Antohe V., Socol G. și **Antohe I.** *Detection of Ammonia Using Polymer Based Chemiresistive Sensors*, NanoBioMat 29 iunie 2023, România (prezentare poster, s-a obținut premiul “**Best Poster Awards**”)



- 3) Popa A., Stochioiu A., Toderașcu L., Antohe V., Socol G. și **Antohe I.** *Detecția de înaltă sensibilitate a amoniacului cu ajutorul senzorilor chemirezistivi*, Sesiunea Științifică Anuală a Facultății de Fizică 2023, Universitatea din București, România (prezentare orală)
- 4) Popa A., Stochioiu A., Toderașcu L., Antohe V., Socol G. și **Antohe I.** *Detecția de înaltă sensibilitate a amoniacului cu ajutorul senzorilor chemirezistivi*, Pentagonul Facultăților de Fizică, Iași 15-17 iulie 2023 (prezentare orală)
- 5) **Antohe I.,** Toderașcu L., Stochioiu A., Popa A., Antohe V. și Socol G. *Development of a fiber optic surface plasmon resonance (FO-SPR) sensor for food and environmental monitoring*, IBWAP (21st International Balkan Workshop on Applied Physics and Materials Science) 11-14 iulie 2023, România (prezentare orală)

##### Articole:

- 1) B. Ydir et. al., *Effects of the chemical and mechanical parameters of the automated SILAR method on the deposition of ZnO nanostructured thin films*, trimis către un jurnal pe zona roșie cu IF 7.392
- 2) **B.G. Șolomonea et. al.,** *Plasmonic strategies for SARS-CoV-2 detection*, în lucru



### **Acțiuni de diseminare către publicul larg:**

S-a avut în vedere popularizarea obiectivelor specifice, precum și a rezultatelor științifice obținute în urma implementării acestui proiect de cercetare, prin intermediul rețelelor de socializare ale directorului de proiect (LinkedIn și Facebook). De asemenea, s-au desfășurat sesiuni de informare a elevilor și studenților ce vizitează periodic laboratoarele INFLPR.

### **5. Referințe:**

1. Shrivastav, A.M., Cvelbar, U. & Abdulhalim, I. A comprehensive review on plasmonic-based biosensors used in viral diagnostics; *Commun Biol* 4, 70 (2021).
2. H A Zain *et al.*, Overview of surface plasmon resonance optical sensors for Covid-19 (SARS-CoV-2) detection; *J. Phys.: Conf. Ser.* 2075 012009 (2021).
3. Evair D. Nascimento, Wilson T. Fonseca, Tássia R. de Oliveira, Camila R.S.T.B. de Correia, Vitor M. Faça, Beatriz P. de Moraes, Virginia C. Silvestrini, Henrique Pott-Junior, Felipe R. Teixeira, Ronaldo C. Faria, COVID-19 diagnosis by SARS-CoV-2 Spike protein detection in saliva using an ultrasensitive magneto-assay based on disposable electrochemical sensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 353, 131128 (2022).
4. Samson R, Navale G R and Dharne M S, Sep., "Biosensors: Frontiers in rapid detection of covid-19," *3 Biotech.* 9 385 (2020).
5. Uddin S.M.A, Chowdhury S.S. and Kabir E., "Numerical analysis of a highly sensitive surface plasmon resonance sensor for sars-cov-2 detection," *Plasmonics* 1-13 (2021).
6. Singh P., "Spr biosensors: Historical perspectives and current challenges," *Sens. Actuators B Chem.* 110-30 (2016).
7. Arghir I., Delpont F., Spasic D., Lammertyn J., Smart design of fiber optic surfaces for improved plasmonic biosensing, *New Biotechnology*, 32 (5), 473-484, (2015).
8. Tran T., Knez K., Janssen K., Pollet J., Spasic D., Lammertyn J. Selection of aptamers against Ara h 1 protein for FO-SPR biosensing of peanut allergens in food matrices, *Biosensors & Bioelectronics*, 43, 245-251, (2013).
9. Antohe I., Spasic D., Delpont F., Li J., Lammertyn J. Nanoscale patterning of gold-coated optical fibers for improved plasmonic sensing, *Nanotechnology*, 28 (21), 215301, (2017).
10. Antohe (Arghir) I., Schouteden K., Goos P., Delpont F., Spasic D., Lammertyn J. Thermal annealing of gold coated fiber optic surfaces for improved plasmonic biosensing, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 229, 678-685, (2016).
11. Arghir I., Spasic D., Verlinden E., Delpont F., Lammertyn J. Improved surface plasmon resonance biosensing using silanized optical fibers, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 216, 518-526, (2015).