

MODULISTICA DI PRESENTAZIONE

PROGETTI DI RICERCA DA FINANZIARE
CON RISORSE DEL FONDO SANITARIO NAZIONALE

Progetto presentato da: SC Sanità Animale, Laboratorio Sierologia Speciale

Area tematica: Sanità Animale, Studio degli aspetti clinici ed epidemiologici, relativi fattori di rischio e prevenzione delle zoonosi trasmesse da vettori: realizzazione mappe di rischio.

Titolo del progetto: Isolamento e caratterizzazione di nuovi batteri e protozoi patogeni trasmessi da vettori artropodi.

Responsabile Scientifico: Giovanna Masala

Titolo del progetto: Isolamento e caratterizzazione di nuovi patogeni trasmessi da vettori artropodi.

Durata del progetto (espressa in mesi): 24

Area tematica: Studio degli aspetti clinici ed epidemiologici, relativi fattori di rischio e prevenzione delle zoonosi trasmesse da vettori: realizzazione mappe di rischio

Responsabile scientifico del progetto:

Cognome: **Masala**

Nome: **Giovanna**

Qualifica: Dirigente veterinario

Telefono 0792892325 Fax

E-mail: giovanna.masala@izs-sardegna.it

Curriculum Vitae: **Giovanna Masala**

Data di nascita - 10/07/1959

Qualifica - Veterinario Dirigente SSN

Incarico: Responsabile del Lab. Sierologia Speciale e Resp. Centro di Referenza Nazionale per l'Echinococcosi Cistica

Numero telefonico dell'ufficio - 0792892325

E-mail istituzionale: giovanna.masala@izs-sardegna.it

Laurea in Medicina Veterinaria c/o Università degli Studi di Sassari,

Specializzazione in Microbiologia e Virologia c/o Università degli studi di Sassari,

Esperienze professionali :

- Resp. Scientifico corso: La Febbre Q: una zoonosi poco conosciuta. Diffusione, Criteri Diagnostici e prevenzione
- Resp. Scientifico Ricerca Corrente 2014 IZS SA 08/14/RC *“Stima della prevalenza dell'echinococcosi cistica negli ovini in Italia”*
- Resp. U.O. della Ricerca Corrente IZS PLV 09/14RC *“Tape-wolf: l'echinococcosi ai tempi del lupo”*.
- Responsabile Scientifico Ricerca Corrente 2013 IZS SA 06/13RC *“Monitoraggio e sorveglianza delle zoonosi quali strumenti per il miglioramento della qualità dei servizi erogati al cittadino”*.
- Responsabile del progetto finanziato dal Ministero: *“Programma di lotta e controllo dell'echinococcosi cistica/idaditidosi in Sardegna : progetto pilota in aree iperendemiche”*.
- Responsabile Ricerca Corrente 2011 IZS SA 06/2011: *“Campionamento epidemiologico su ovini in un territorio con elevata endemia di Echinococcosi Cistica”*.
- Responsabile del Progetto finanziato dall'Ente 2011: *“Isolamento e caratterizzazione nell'ambito del genere Rickettsia, del genere Ehrlichia ed Anaplasma degli agenti zoonosici responsabili di gravi patologie”*.
- Resp. Scientifico **del Corso Itinerante Nazionale**: progetto formativo *“Stato dell' arte, flussi informativi, piani di intervento sul territorio, metodologie di laboratorio, linee guida del Centro di Referenza Nazionale per l'Echinococcosi (CeNRE)”* era articolato in 11 edizioni, di una giornata ciascuna, 3 in Sardegna, e 8 nel rimanente territorio Nazionale. In particolare nel 2010 si sono svolte le edizioni sarde a **Cagliari, Nuoro e Sassari** e nel primo semestre del 2011 le edizioni di **Foggia, Napoli, Palermo e Roma**. Le altre sono state svolte a **Padova e Torino nel 2012**, mentre **Pavia e Perugia** sono state raggiunte nel corso del 2014.
- Ricerca Regionale di Base 2010: *“Coxiella burnetii: studio dei meccanismi di patogenicità e caratterizzazione dei ceppi isolati in Sardegna”*.
- Responsabile della Ricerca Corrente IZS SA 07/ 2010: *“Echinococcosi Cistica: Implementazione di nuovi sistemi diagnostici e nuovi flussi informativi”*.
- Responsabile della U.O. 2 del progetto *“Piano di controllo della echinococcosi-idaditidosi in Sardegna”* finanziato dal Ministero della Salute – Dipartimento della prevenzione e della comunicazione, nell'ambito delle area progettuale di attività dei Comitati CCM per l'anno 2010.
- Responsabile della U.O. 3 Ricerca Fondamentale o di base Regionale 2009: Studio dei meccanismi di patogenicità di microrganismi patogeni per uomo ed animali, a trasmissione intraspecie, interspecie e ambientale
- Responsabile del Progetto finanziato dall'Ente 2008: Isolamento e caratterizzazione nell'ambito del genere *Rickettsia*, del genere *Ehrlichia* ed *Anaplasma* degli agenti zoonosici responsabili di gravi patologie.

- Resp U.O. 3 Ricerca Finalizzata 2007: RFPS-2007-7-644760. P4 Network for vector-borne infections surveillance.
- Responsabile di un programma Master and Back 2007: Tirocinio e stage
- Responsabile del Progetto finanziato dall'Ente 2006: Isolamento e caratterizzazione nell'ambito del genere *Rickettsia*, del genere *Ehrlichia* ed *Anaplasma* degli agenti zoonosici responsabili di gravi patologie.
- Responsabile di un progetto cofinanziato dalla Fondazione Banco di Sardegna 2006 dal titolo: Indagine sulla diffusione delle bartonellosi nell'uomo e nelle popolazioni feline nella provincia di Sassari: messa a punto di protocolli diagnostici e terapeutici relativi all'infezione da *Bartonella* spp. in medicina veterinaria ed in medicina umana
- RESP. SCIENTIFICO ed ORGANIZZATORE : della Conferenza Internazionale "EHRLICHIOSI-ANAPLASMOSI NELL'UOMO E NEGLI ANIMALI: UNA ARBOZONOSI EMERGENTE". Alghero 26-28 Maggio 2004.
- Responsabile della U. O.1 della Ricerca Corrente 2003 dal titolo: "Studio della diffusione dei principali vettori di Ehrlichiosi e Rickettsiosi nella Regione Sardegna"
- Responsabile della Ricerca Corrente 2001 dal titolo: "Studio dell'infezione da *Toxoplasma gondii* in aziende ovine problema".
- Responsabile del programma "Co-operation in prevention and control of zoonoses" nell'ambito del Progetto di gemellaggio con la Bulgaria finanziato dal Ministero della Sanità nel 2000-2001.
- Responsabile della Ricerca Corrente anno 2000 dal titolo: "Caratterizzazione fenotipica e genotipica nell'ambito del genere *Rickettsia* e del genere *Ehrlichia* degli agenti zoonosici responsabili di gravi patologie nel cane e nell'uomo".
- Responsabile di un Progetto Operativo Multiregionale, Misura 2, Innovazioni tecnologiche e trasferimento dei risultati della ricerca, dal titolo : "Miglioramento produzioni zootecniche mediante utilizzo di tecniche biomolecolari per il controllo degli aborti ovi-caprini" dal 1999-2001".

Capacità linguistiche: Francese: Parlato e Scritto Scolastico; Inglese: Parlato Scolastico e Scritto Buono.

PUBBLICAZIONI su riveste con I. F.

Madeddu G., Fiore vV., Mancini F., Caddeo A., Ciervo A., **Masala G.**, Rezza G., Mura M.S., "Mediterranean spotted fever-like illness in Sardinia, Italy: a clinical and microbiological study". submitted *Clinical Microbiology and Infection*

Polo M.F., Mastrandrea S., Santoru L., Arcadu A., **Masala G.**, Bagella G., Sechi M.M., Pirina P. Pulmonary Inflammatory Pseudotumor due to *Coxiella burnetii*. *Case report and literature review. Microbes and Infection 2015*, doi.org10.1016/j.micinf.2015.08.008

Masu G., Porcu R., Chisu V., Floris A., **Masala G.** "Reorganization of actin cytoskeleton in L929 cells infected with *Coxiella burnetii* strains isolated from sheep abortion in Sardinia, Italy". *Veterinaria Italiana 2015*,51,(2),107-114.

Retrospective study of human cystic echinococcosis in Italy based on the analysis of hospital discharge records between 2001 and 2012. Brundu D, Piseddu T, Stegel G, Masu G, Ledda S, **Masala G.** *Acta Trop.* **2014** Aug 19;140C:91-96. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.08.011.

An easy and efficient method for native and immunoreactive Echinococcus granulosus antigen 5 enrichment from hydatid cyst fluid. Pagnozzi D, Biossa G, Addis MF, Mastrandrea S, **Masala G.**, Uzzau S. *PLoS One.* **2014** Aug 13;9(8):e104962. doi: 10.1371/journal.pone.0104962. eCollection 2014.

Rickettsia conori israelensis in *Rhipisephalus sanguineus* ticks, Sardinia,Italy. Chisu V., **Masala G.**, Foxi C., Socolovschi C., Raoult D., Parola P. *Ticks and Tick-Borne Dis.***2014** (5) 446-448

- Molecular characterization of *Toxoplasma gondii* Type II in sheep abortion in Sardinia, Italy
Chessa G., Chisu V., Porcu Rosaura, **Masala G. *Parasite* 2014**, 21,6
- First isolation and characterization of *Chamydophila abortus* from abortion tissues of sheep in Sardinia, Italy. Chisu V., Porcu Rosaura, Tanda Antonio, **Masala G. *Veterinaria Italiana* 2013**, 49 (4), 331-334.
- Validation of a serological test for the diagnosis of canine rickettsial disease. Masu G, Sechi S, Cocco R, Chisu V, Tanda A, Lollai S, **Masala G. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012** Dec; 3(5-6):322-6. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.024. Epub 2012 Nov 20.
- Rickettsia slovaca* from Dermacentor marginatus ticks in Sardinia, Italy. **Masala G**, Chisu V, Satta G, Socolovschi C, Raoult D, Parola P. ***Ticks Tick Borne Dis.* 2012** Dec;3(5-6):393-5. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.007. Epub 2012 Oct 22.
- First detection of *Ehrlichia canis* in Rhipicephalus bursa ticks in Sardinia, Italy. **Masala G**, Chisu V, Foxi C, Socolovschi C, Raoult D, Parola P. ***Ticks Tick Borne Dis.* 2012** Dec;3(5-6):396-7. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.006. Epub 2012 Oct 22
- Cystic echinococcosis in slaughtered cattle in Sardinia: a retrospective epidemiological study and spatial analysis. Brundu D, Aloï D, Rolesu S, Piseddu T, **Masala G. *Geospat Health.* 2012** May;6(2):285-91
- A retrospective study on burden of human echinococcosis based on Hospital Discharge Records from 2001 to 2009 in Sardinia, Italy. Mastrandrea S, Stegel G, Piseddu T, Ledda S, **Masala G. *Acta Trop.* 2012** Sep;123(3):184-9. doi: 10.1016/j.actatropica.2012.05.004. Epub 2012 May 24.
- Pathogens and symbionts in ticks: a survey on tick species distribution and presence of tick-transmitted micro-organisms in Sardinia, Italy. Satta G, Chisu V, Cabras P, Fois F, **Masala G. *J Med Microbiol.* 2011** Jan;60(Pt 1):63-8. doi: 10.1099/jmm.0.021543-0. Epub 2010 Sep 30.
- Isolation and characterization of *Bartonella* strains in cats in Italy. Capitta P, Zobba R, **Masala G**, Cocco R, Tola S, Parpaglia ML. ***Transbound Emerg Dis.* 2010** Jun;57(3):201-4. doi: 10.1111/j.1865-1682.2010.01133.x. Epub 2010 Mar 14
- Epidemiological study of *Toxoplasma gondii* infection in ovine breeding. Zedda MT, Rolesu S, Pau S, Rosati I, Ledda S, Satta G, Patta C, **Masala G. *Zoonoses Public Health.* 2010** Dec;57(7-8):e102-8. doi: 10.1111/j.1863-2378.2009.01292.x.
- Detection of *Bartonella henselae*--DNA in macronodular hepatic lesions of an immunocompetent woman. Mastrandrea S, Simonetta Taras M, Capitta P, Tola S, Marras V, Strusi G, **Masala G. *Clin Microbiol Infect.* 2009** Dec; 15 Suppl 2:116-7. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02190.x. Epub 2009 Sep 28. No abstract available.
- Serological and molecular detection of *Bartonella* spp. in humans, cats and dogs from northern Sardinia, Italy. Zobba R, Chessa G, Mastrandrea S, Pinna Parpaglia ML, Patta C, **Masala G. *Clin Microbiol Infect.* 2009** Dec;15 Suppl 2:134-5. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02203.x. Epub 2009 May 18.

Sintesi del progetto

Negli ultimi anni si è assistito ad costante aumento di infezioni trasmesse da artropodi vettori agli animali domestici e all'uomo. Conoscere la popolazione dei vettori presenti, la loro densità e soprattutto i patogeni da loro veicolati nel territorio è di fondamentale importanza per poter adottare misure di prevenzione e controllo finalizzate alla riduzione del rischio di trasmissione delle malattie da loro veicolate. Questo progetto si pone l'obiettivo di aumentare le conoscenze sui microrganismi patogeni veicolati da artropodi vettori ed eventualmente nuove introduzioni; raccogliere i dati in un database per poter elaborare informazioni fruibili da tutti gli operatori del settore, e creare mappe di presenza dei vettori e patogeni veicolati al fine di individuare aree caratterizzate da un potenziale rischio di diffusione di vector-borne diseases. I dati raccolti consentiranno di effettuare analisi statistiche, produrre mappe di rischio locale ed alimentare il progetto europeo "***VectorNet: A European network for sharing data on the geographic distribution of arthropod vectors, transmitting human and animal disease agents***". La disponibilità di informazioni costanti e aggiornate sulle popolazioni di vettori presenti sul territorio consente non solo di determinare a quali rischi esso sia esposto, ma anche di acquisire da parte della autorità sanitarie locali le informazioni utili per pianificare in collaborazione (medici umani e veterinari) le attività di prevenzione o di intervento ed eradicazione in caso di emergenza.

1. Breve sintesi delle conoscenze già disponibili sull'argomento

Per la Sanità Pubblica umana e veterinaria, le malattie trasmesse da zecche stanno occupando un ruolo di primaria importanza nell'ambito delle patologie infettive a carattere zoonosico. L'elemento nuovo che sta richiamando l'attenzione del mondo medico-veterinario verso i vettori (zecche e insetti) è rappresentato dall'aumentata frequenza delle aggressioni verso l'uomo e dall'emergere di nuove patologie dovute ad agenti patogeni non riconosciuti in precedenza. Altrettanto importante è il problema della circolazione dei microrganismi responsabili di tali zoonosi nelle diverse specie animali in quanto tale circolazione era prima "relegata" a cicli ecologici che vedevano le zecche come vettori di patogeni caratteristici di specie selvatiche situate in ambienti poco utilizzati dall'uomo o che insidiavano questo ultimo solo in relazione alle sue attività professionali. Oggi la probabilità di coinvolgere l'ospite umano è fortemente aumentata in relazione ai cambiamenti nella gestione del territorio che ha portato l'uomo ad "invadere" ambienti ad elevato rischio di infezione sia per scopi professionali che sportivi (allevamento, pastorizia, parchi, escursioni, trekking ecc.), ed ai nuovi assetti socio-economici (ad esempio l'elevata mobilità delle popolazioni umane a scopo turistico o di lavoro). La Sardegna è la seconda regione italiana per numero di notifiche di casi clinici umani ascrivibili alle "*Rickettsiosi in senso lato*". Tali forme cliniche sono determinate da diversi microrganismi quali Rickettsie, Ehrlichie, Anaplasmi, Coxielle e Bartonelle che, oltre ai sintomi classici di rickettsiosi, possono manifestare quadri complicati da interessamento d'organi, quadri settici e patologie croniche anche con elevata letalità. Sino a poco tempo fa in Italia ed in Europa si riteneva che la *Rickettsia conorii* fosse l'unica specie responsabile della *Mediterranean Spotted Fever*, ma recenti lavori di biologia molecolare hanno evidenziato la presenza in Sardegna di altre specie di Rickettsie patogene, quali la *R. slovacca* nelle zecche *Dermacentor marginatus* ed *Haemaphysalis punctata*, la *R. elvetica* in *Ixodes ricinus*, la *R. israeli spotted fever* in *Rhipicephalus sanguineus*, la *R. africae* e la *R. aeschlimanni* in *Hyalomma marginatum*. Dal 2004, privati e aziende inviano presso i nostri Laboratori campioni di zecche prelevate sia da animali domestici che selvatici. Si procede all'identificazione tramite osservazione al microscopio ottico e successiva classificazione in Famiglia, Genere e Specie utilizzando le chiavi tassonomiche e le tavole morfometriche. La successiva analisi in PCR degli omogenati ottenuti dalle zecche ha permesso di determinare la presenza di *SFG Rickettsia*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Coxiella burnetii* e *Bartonella species*. Recentemente si è aggiunta la ricerca di batteri appartenenti all'ordine *Chlamydiales* e di protozoi del genere *Babesia* anch'essi responsabili di malattia sia nell'uomo che negli animali. A tutt'oggi sono state caratterizzate diverse Rickettsie patogene per l'uomo: *Rickettsia aeschlimannii* da *Hyalomma marginatum marginatum*; *R. massiliae* da *Rhipicephalus turanicus* e *Rhipicephalus sanguineus*; *Candidatus Rickettsia barbarie*, una nuova rickettsia da *Rhipicephalus turanicus*; *R. slovacca* da *Dermacentor marginatum*; *Ri. conorii subsp. israelensis* da *Rh. sanguineus*. Il ceppo TWN di *Ehrlichia canis* è stato caratterizzato da zecche del genere *Rh. bursa*; recentemente è stato sequenziato il DNA di *Anaplasma phagocytophilum* e *Anaplasma marginale* da *Rh. bursa* e *Rh. turanicus*. Infine, la standardizzazione di una PCR per l'identificazione di batteri della famiglia *chlamydiales* ha permesso di determinare la presenza di *C. psittaci*, *C. abortus*, *C. caviae* in diverse specie di artropodi: *Haemaphysalis sulcata*, *Hyalomma marginatum*, *R. sanguineus*, *Lipoptena cervi*, *Ctenocephalides canis* e *Linognathus stenopsis*.

2. Quali nuove conoscenze/informazioni il progetto si prefigge di produrre

Migliorare il programma di sorveglianza entomologica in Sardegna al fine di raccogliere informazioni sui vettori che sull'epidemiologia della malattia.

Questo consentirebbe ai servizi di Sanità Pubblica di individuare:

- a)** quali specie di vettori sono presenti sul territorio e associazione con l'ospite;
- b)** la densità del vettore;
- c)** i microrganismi patogeni trasmessi dai vettori;
- d)** la distribuzione sul territorio dei patogeni trasmessi dai vettori e associazione con l'ospite;
- e)** introduzione di nuovi patogeni;
- f)** introduzione di nuove specie di vettori;
- g)** la circolazione dei patogeni negli animali ospiti e/o serbatoio;
- h)** valutare la rilevanza epidemiologica dei vettori artropodi come veicolo di diffusione dei diversi patogeni ;

Il progetto si prefigge di proseguire, perfezionando al meglio, l'isolamento dei diversi patogeni circolante in Sardegna veicolati da vettori artropodi, in questo modo sarà possibile avere una visione più chiara sulla circolazione dei patogeni veicolati dai vettori artropodi in un determinato ambito territoriale, informazioni indispensabili per la creazione di una mappa di rischio .

3. Metodologia

- 1)- Identificazione degli artropodi vettori (in collaborazione con l'esperto entomologo);
- 2) - Standardizzazione metodiche di identificazione biomolecolare degli artropodi;
- 3) - Ricerca dei microrganismi tramite PCR (*Rickettsiae* SFG, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Coxiella burnetii*, *Bartonella* spp, *Clamydiales*, *Babesia*, responsabili di malattia nell'uomo e negli animali mediante metodiche sull'omogenato di artropodi;
- 4) - Messa a punto e standardizzazione Real Time PCR;
- 5) - Caratterizzazione tramite RFLP degli amplificati positivi e sequenziamento, clonaggio e analisi filogenetica dei campioni positivi;
- 6) - Isolamento dei patogeni su specifici substrati cellulari di zecche (IRE/CTVM20; RSE8; IDE8 della Tick Cell Biobank-The Pirbright Institute)
- 7) -Studio e analisi delle modificazioni intracellulari causate dall'infezione, evidenziate con anticorpi monoclonali fluorescenti verso le proteine e organuli del citoplasma cellulare e analizzate con microscopio confocale a fluorescenza.

4. Descrizione dei criteri di trasferibilità e di diffusione dei prodotti e dei risultati da conseguire;

I risultati della ricerca saranno pubblicati su riviste scientifiche Nazionali ed Internazionali, nonché presentati nell'ambito di Congressi Scientifici ed eventi formativi per il personale del SNN e per i professionisti operanti nel settore e resi disponibili agli Uffici competenti del Ministero della Salute, alle Regioni, ai referenti degli IZZSS.

Le informazioni acquisite con questo progetto verranno condivise con il progetto “*VectorNet: A European network for sharing data on the geographic distribution of arthropod vectors, transmitting human and animal disease agents*”, un iniziativa congiunta dell'EFSA e dell'ECDC, istituito nel 2014 che supporta la raccolta di dati relativi ai vettori e patogeni trasmessi, finalizzato a mantenere un data-base comune in Europa e nel bacino del Mediterraneo.

I risultati verranno diffusi tramite il Centro di Sorveglianza Epidemiologica dell'IZS della Sardegna.

5. Valore aggiunto dell'aggregazione tra soggetti diversi che partecipano al progetto;

Da alcuni anni è in corso una stretta collaborazione con il *Prof. Philippe Parola* ed il *Prof. Raoult Didier* dei laboratori dell'Unité des Rickettsies, Faculté de Médecine La Timone, Marsiglia, che ha permesso l'isolamento e la caratterizzazione delle Rickettsiae ritrovate in Sardegna. Recentemente è stata attivata una collaborazione con il *Prof. Gilbert Greub*, MD-PhD Chef de Service et Directeur de l'Institut de Microbiologie Médecin chef des laboratoires de microbiologie diagnostique Institut de microbiologie de l'Université de Lausanne, CHUV centre hospitalier universitaire vaudois, che ha permesso di approfondire lo studio sulle specie di Chlamidie circolanti nei vettori artropodi in Sardegna. E' in essere a tutt'oggi una collaborazione con il *Prof. Alberto Alberti* del Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università di Sassari, Istituto di Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinari ache ha permesso di implementare le conoscenze sulle vector-borne diseases negli animali in Sardegna.

Le differenti collaborazioni sono in grado di apportare specifici contributi per la realizzazione di tutte le attività specialistiche che si svilupperanno in questo progetto, garantendo un approccio multidisciplinare integrato ai fini del raggiungimento degli obiettivi della ricerca.

6. Output del programma con indicazione dei tempi previsti per la presentazione;

Cronogramma del progetto

Periodo	I semestre	II semestre	III semestre	IV semestre
Riunione di avvio e coordinamento				
Raccolta e identificazione artropodi				
Analisi molecolare, sequenziamento e analisi filogenetica				
Inserimento dei dati in data-base				
Riunione periodiche per verifica di obiettivi e risultati				
Analisi dei dati				
Condivisione dei dati con <i>“VectorNet: A European network for sharing data on the geographic distribution of arthropod vectors, transmitting human and animal disease agents”</i>				
Elaborazione mappe				
Divulgazione dei risultati nell’ambito di eventi formativi e convegni scientifici e stesura lavoro per rivista indicizzata				

7. Obiettivi e indicatori per la verifica dei risultati raggiunti.

Obiettivo a) e b): Indicatori: numero di artropodi raccolti e prevalenza nei diversi siti di raccolta e sugli animali parassitati.

Obiettivo c): Indicatore: n° e specie di patogeni presenti nei vettori.

Obiettivo d), e) ed f): Indicatore: presenza dei diversi patogeni, segnalazione di vettori non evidenziati prima ed eventuale riscontro di nuovi microrganismi.

Obiettivo g): Indicatore: n° di prelievi ed analisi su animali ospiti e/o serbatoi per la valutazione del mantenimento del ciclo in natura.

Obiettivo h): Indicatore: analisi statistica dei dati ottenuti con le raccolte e i dati relativi alla circolazione dei patogeni veicolati.

Tabella n. 1**Titolo del progetto: Isolamento e caratterizzazione di nuovi patogeni trasmessi da vettori artropodi.****Durata del progetto** (espressa in mesi): 24**Responsabile scientifico** Cognome Masala

Nome Giovanna

VOCE DI SPESA	Importo	Descrizione
Borsa di studio biologo superspecialistica		<ul style="list-style-type: none">-Standardizzazione metodiche di identificazione biomolecolare degli artropodi;-Ricerca dei microrganismi tramite PCR (<i>Rickettsiae</i> SFG, <i>Anaplasma</i> spp., <i>Ehrlichia</i> spp., <i>Coxiella burnetii</i>, <i>Bartonella</i> spp, <i>Chlamydiales</i>, <i>Babesia</i>), responsabili di malattia nell'uomo e negli animali mediante metodiche sull'omogenato di artropodi;- Messa a punto e standardizzazione Real Time PCR;- Caratterizzazione tramite RFLP degli amplificati positivi e sequenziamento, clonaggio e analisi filogenetica dei campioni positivi;- Isolamento dei patogeni su specifici substrati cellulari di zecche (IRE/CTVM20; RSE8; IDE8 della Tick Cell Biobank The Pirbright Institute)-Studio e analisi delle modificazioni intracellulari causate dall'infezione, evidenziate con anticorpi monoclonali fluorescenti verso le proteine e organuli del citoplasma cellulare e analizzate con microscopio confocale a fluorescenza.

Firma del Responsabile Scientifico del progetto

Giovanna Masala