

PROGETTI DI RICERCA DA FINANZIARE
CON RISORSE DEL FONDO SANITARIO NAZIONALE

Progetto presentato da:

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA
SARDEGNA
STRUTTURA COMPLESSA IGIENE DEGLI ALIMENTI
LABORATORIO DI ISPEZIONE ALIMENTI

Area tematica:

SICUREZZA ALIMENTARE

Titolo del progetto: Ricerca di protozoi zoonosici dei generi *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxoplasma* e *Cyclospora* in molluschi bivalvi allevati e commercializzati nella Regione Sardegna e sviluppo di tecniche biomolecolari per la caratterizzazione genetica degli isolati.

Responsabile Scientifico: Dr. Sebastiano Virgilio

Progetto di Ricerca elaborato dalla Dr.ssa Tiziana Tedde, Veterinario di Medicina Specialistica Ambulatoriale del Laboratorio di Ispezione Alimenti

Titolo del progetto: Ricerca di Protozoi zoonosici dei generi *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxoplasma* e *Cyclospora* in molluschi bivalvi allevati e commercializzati nella Regione Sardegna e sviluppo di tecniche biomolecolari per la caratterizzazione genetica degli isolati

Durata del progetto (espressa in mesi): 24

Area tematica: Sicurezza Alimentare

Responsabile scientifico del progetto:

Cognome: Virgilio

Nome: Sebastiano

Qualifica: Dirigente Veterinario, Resp. Laboratorio di Ispezione Alimenti

Telefono 079 2892334 Fax 079 2892324

E-mail: sebastiano.virgilio@izs-sardegna.it

ALLEGARE - Curriculum vitae del responsabile scientifico.

Periodo di riferimento: ultimi 5 anni con indicazione anche delle 10 pubblicazioni scientifiche ritenute più significative, con particolare riferimento a quelle dell'area scientifica sulla quale insiste il progetto.

Laureato in Medicina Veterinaria nell'a.a. 1985-86 presso l'Università degli Studi di Torino, ha conseguito le Specializzazioni universitarie in Microbiologia e Virologia (Fac. Medicina e Chirurgia Univ. Sassari, a.a. 1995-96) e in Ispezione e Controllo degli Alimenti di O.A. (Fac. Med. Veterinaria Univ. Sassari, a.a. 1999-2000) e i Perfezionamenti universitari in Ittiopatologia e Controllo sanitario dei prodotti della pesca (Fac. Med. Vet. Univ. Sassari, 1997) e in Diritto, legislazione e Sanità pubblica veterinaria (Fac. Med. Vet. Univ. Sassari, 2002).

E' attualmente Responsabile del Laboratorio di Ispezione degli Alimenti di O.A. presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna in Sassari. Dal 1997 a tutt'oggi è stato responsabile scientifico e di unità operativa di 35 Progetti di Ricerca corrente e finalizzata inerenti la Sicurezza alimentare approvati e finanziati dal Ministero della Salute. Autore di circa 80 pubblicazioni inerenti la sicurezza alimentare su riviste nazionali e internazionali.

- **Virgilio S.**, Marongiu E., Lorenzoni G., Canu A., Tedde T., Terrosu G., Uda M.T., Rosa M.N., Congiu S., Poletti R. (2007) "Rischio sanitario da biotossine algali del tipo P.S.P. (*Paralytic Shellfish Poison*) in mitili di produzione locale e di importazione: la gestione delle emergenze nella Regione Sardegna". Atti XVII Convegno Nazionale Ass. It. Veterinari Igienisti. Cesenatico, 14-15-16 giugno 2007;
- Tedde T., Piras M.C., Pinna C., **Virgilio S.**, Terrosu G., Piras A., Garippa G., Merella P. (2010) "Primi risultati sulla presenza e caratterizzazione di nematodi Anisakidi in specie ittiche marine pescate nel nord Sardegna". XX Convegno nazionale Associazione Italiana Veterinari Igienisti (A.I.V.I.), Copanello di Stalettù (CZ), 16-18 giugno 2010;
- Piras M.C., Tedde T., Garippa G., **Virgilio S.**, Piras G.P., Merella P. (2010) "First contribution the Knowledge of the epidemiology and molecular characterization of *Anisakis* spp. In commercial fish caught off northern Sardinia". Parassitologia Vol. 52 (N°1-2), 2010;
- Tedde T., Piras M.C., Merella P., Mele P., Lorenzoni G., Rosa M.N., Salza S., Assaretti A., Santoru F., Marongiu E., **Virgilio S.** (2011) "Caratterizzazione biomolecolare di nematodi Anisakidi in specie ittiche marine pescate nel nord Sardegna" (poster). XXI Convegno nazionale Associazione Italiana Veterinari Igienisti (A.I.V.I.), Signa (FI), 8-10 giugno 2011
- Piras M.C., Tedde T., Garippa G., **Virgilio S.**, Amor N., Farjallah S., Merella P. (2012) "Epidemiology and molecular identification of larval *Anisakis* spp. In commercial fish caught off northern Sardinia (western Mediterranean Sea): an update". Atti XXVII Congresso Nazionale SOIPA (Società Italiana di Parassitologia). Alghero 26-29 giugno 2012, pag. 191;
- Culurgioni J., Sanna G., **Virgilio S.**, Piras G., Tedde T., Salza S., Rosa M.N., Tola S., Piras M.C., Garippa G., Merella P. (2012) "*Cryptosporidium* sp.e *Giardia* sp. in edible bivalves: results of a one-year monitoring on three sites in Sardinia". Atti XXVII Congresso Nazionale SOIPA (Società Italiana di Parassitologia). Alghero 26-29 giugno 2012, pag. 180;
- Tedde T., Piras G., Salza S., Serra S., Mura A., Giugliano L., Rosa M.N., Sanna G., Tola S., Culurgioni J., Piras C., Merella P., Garippa G., **Virgilio S.** (2012) "Ricerca di *Cryptosporidium* e *Giardia* in molluschi bivalvi allevati nella regione Sardegna e destinati al consumo umano". Atti XXII Convegno Nazionale dell'Associazione Italiana Veterinari

Igienisti (A.I.V.I.). Torino 19-21 Settembre 2012; *Italian Journal of Food Safety* ,Vol. 2, N. 1, 2012;

- Tiziana Tedde, Gabriella Piras, Sara Salza, Rosa Maria Nives, Giovanna Sanna, Sebastiana Tola, Jacopo Culurgioni, Cristina Piras, Paolo Merella, Giovanni Garippa, **Sebastiano Virgilio** (2013) “ Investigation into *Cryptosporidium* and *Giardia* in bivalve mollusks farmed in Sardinia region and destined for human consumption “ *Italian Journal Food Safety*, Vol 2, No 2, 91-93, 2013;
- M.C. Piras, T. Tedde, G. Garippa, **S. Virgilio**, D. Sanna, S. Farjallah, P. Merella (2014). Molecular and epidemiological data on *Anisakis* spp.(Nematoda: *Anisakidae*) in commercial fish caught off northern Sardinia (western Mediterranean Sea). *Veterinary Parasitology* 203 (2014) 237–240;
- T. Tedde, S. Salza, A. Giangaspero, M. Marangi, E. Marongiu, **S. Virgilio**. (2015) Ricerca e caratterizzazione genotipica di *Toxoplasma gondii* in mitili allevati e commercializzati nella Regione Sardegna. Atti XXV Congresso Nazionale AIVI , Sorrento, 28-29-30 Ottobre 2015, pp 11-12.

Descrizione complessiva del progetto

Formulare una sintesi del progetto

Dovranno essere chiaramente esplicitati:

1. Breve sintesi delle conoscenze già disponibili sull'argomento;
2. Quali nuove conoscenze/informazioni il progetto si prefigge di produrre;
3. Metodologia;
4. Descrizione dei criteri di trasferibilità e di diffusione dei prodotti e dei risultati da conseguire;
5. Valore aggiunto dell'aggregazione tra soggetti diversi che partecipano al progetto;
6. Output del programma (es. documenti; metodologie; corsi di formazione, attivazione di servizi, etc.) con indicazione dei tempi previsti per la presentazione;
7. Obiettivi e indicatori per la verifica dei risultati raggiunti.

1. Breve sintesi delle conoscenze già disponibili sull'argomento

L'allevamento dei molluschi bivalvi costituisce nella Regione Sardegna una importante realtà produttiva ed economica. Tali organismi si nutrono, come è noto, mediante filtrazione di grandi quantità dell'acqua in cui vivono e sono pertanto in grado di accumulare nei propri tessuti edibili microrganismi potenzialmente patogeni (quali ad es. *Salmonella spp*, vibriani patogeni, *E.coli* patogeni, virus enterici, protozoi di interesse zoonosico), microalghe tossiche produttrici di tossine algali, inquinanti chimici (metalli pesanti, pesticidi, idrocarburi. ecc.), qualora presenti.

Dalla bibliografia consultata emerge un elevato numero di contributi scientifici relativi ai microrganismi potenzialmente patogeni (batteri, virus) e alle tossine di origine algale, mentre risultano ancora limitati gli studi e le ricerche sui protozoi di interesse zoonosico che possono essere veicolati dai molluschi eduli lamellibranchi e trasmessi al consumatore.

Protozoi del genere *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxoplasma* e *Cyclospora* sono stati più volte associati a episodi epidemici di malattia causati da acqua e alimenti contaminati anche nei Paesi più avanzati dal punto di vista igienico; alcune specie/genotipi di questi parassiti (segnatamente *C. parvum* e *C. hominis*, *G. duodenalis* e *Toxoplasma gondii*), inoltre, risultano comuni agli animali e all'uomo e sono stati isolati in molluschi bivalvi (mitili, vongole, ostriche) allevati in differenti aree marine del mondo, compresa l'Europa (Gòmez-Causo et al., 2006) e, più di recente, l'Italia (Giangaspero et al., 2009). Per quanto riguarda *Cyclospora cayetanensis* si evidenzia la scarsità di dati bibliografici disponibili a livello internazionale relativamente al ruolo degli animali come *reservoirs* e possibili ospiti intermedi del parassita, responsabili della eventuale disseminazione ambientale delle oocisti e conseguente contaminazione secondaria di acque e alimenti, tra cui i molluschi bivalvi (Aksoy U. et al., 2014).

Studi effettuati negli Stati Uniti hanno evidenziato, in particolare, la presenza di *Cryptosporidium parvum* in mitili delle specie *Mytilus galloprovincialis* e *M. californianus* (Miller WA. et al., 2005), in ostriche della specie *Crassostrea virginica* e in vongole. La presenza di *Giardia duodenalis* "Assemblaggio A" è stata documentata, invece, solo in campioni di vongole (*Macoma balthica* e *Macoma mitchelli*) non edibili (Fayer R. et al., 2002).

Per quanto riguarda i molluschi bivalvi prodotti nell'Unione Europea, la presenza di *Cryptosporidium parvum* è stata accertata in campioni di *Mytilus galloprovincialis* allevati in Spagna (Gomez-Bautista M. et al., 2000), di *Mytilus edulis* allevati in Francia (Xunde Li et al., 2006), in ostriche provenienti dai Paesi Bassi (Schets F.M. et al., 2007) e in molluschi bivalvi provenienti dalla Norvegia (Robertson L.J et al., 2008).

In Italia è stata riscontrata la presenza di *Cryptosporidium parvum* e di *Giardia duodenalis* "Assemblaggio A" in campioni di acqua provenienti da zone di raccolta del Mar Adriatico e di *Mytilus galloprovincialis* prelevati presso esercizi di vendita al dettaglio nel sud della Penisola. (Giangaspero et al., 2009). Nel nostro Paese è stata segnalata, inoltre, la presenza di oocisti/cisti di *Cryptosporidium parvum* e di *Giardia duodenalis* "Assemblaggio A" nel suolo, in acqua di mare, in materiale fecale proveniente da diverse specie di animali da reddito e da compagnia e di origine umana, a dimostrazione del ruolo zoonotico dei suddetti genotipi (Grana L. et al., 2006). Oocisti di *Toxoplasma gondii* e *C. cayetanensis* sono state isolate da campioni di *Mytilus galloprovincialis* allevati in Turchia (Aksoy U. et al., 2014). Per quanto riguarda invece la ricerca dei suddetti protozoi in prodotti italiani, è stata rilevata la presenza di *Toxoplasma gondii* in un campione di *Crassostrea gigas* e in uno di *Tapes decussatus* allevati nella Regione Puglia, mentre non è mai stata segnalata la presenza di oocisti di *Cyclospora cayetanensis* in esemplari di molluschi bivalvi vivi allevati e commercializzati nel nostro Paese.

Relativamente alla Regione Sardegna, il Laboratorio di Ispezione degli Alimenti dell'IZS ha recentemente evidenziato, limitatamente ai mitili, la presenza di protozoi zoonosici dei generi *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Toxoplasma*. Il riscontro di quest'ultimo rappresenta la prima segnalazione di oocisti di *Toxoplasma gondii* Type 1 in campioni di mitili allevati e commercializzati in Italia.

Bibliografia essenziale:

- Aksoy U., Marangi M., Papini R., Ozkoc S., Bayram Delibas S. and Giangaspero A. (2014). “Detector of *Toxoplasma gondii* and *Cyclospora cayetenensis* in *Mytilus galloprovincialis* from Izmir Province coast (Turkey) by Real Time PCR/High-Resolution Melting analysis (HRM)”. *Food Microbiology* 44: 128-135
- Fayer R., Trout J.M., Lewis E.J., Xiao L., Lal A., Jenkins M.C. and Graczyk T.K. (2002). “Temporal variability of *Cryptosporidium* in the Chesapeake Bay”. *Parasitol. Res.* 88:998-1003.
- Giangaspero A., Cirillo R., Lacasella V., Lonigro A., Marangi M., Cavallo P., Berilli F., Di Cave D. and Brandonisio O. (2009). “*Giardia* and *Cryptosporidium* in inflowing water and harvested shellfish in a lagoon in Souther Italy”. *Parasitol. Int.* 58: 12-17.
- Giangaspero A., Papini R., Marangi M. and Gasser R.B. (2014).”*Cryptosporidium parvum* genotype IIa and *Giardia duodenalis* assemblage A in *Mytilus galloprovincialis* on sale at local food markets”. *International Journal of Food Microbiology* 171:62-67.
- Gomez-Bautista M., Ortega-Mora L.M., Tabares E., Lopez-Rodas V. & Costas E. (2000). “Detection of infectious cryptosporidium parvum oocysts in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and cockles (*Cerastoderma edule*)”. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66 (5): 1866-1870.
- Gòmez-Causo H., Mèndez-Hermida F., Castro-Hermida J.A. and Ares-Mazàs E. (2006). “*Cryptosporidium* contamination in harvesting areas of bivalve molluscs”. *J. Food Prot.* 69:185-190
- Grana L., Lalle M., Habluetzel A., Silvestri S., Traldi G., Tonanti D., Pozio E. and Cacciò S.M. (2006). “Distribution of zoonotic and animal specific genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves of cattle farms in the Marche region”. *Parassitologia* 48:208.
- Miller W.A., Miller M.A., Gardner I.A. et al. (2005). “New genotypes and factors associated with *Cryptosporidium* detection in mussel (*Mytilus* spp.) along the California coast”. *International Journal for Parasitology*, vol. 35, no. 10, pp. 1103-1113.
- Robertson L.J. and Gjerde B.(2008). “Development and use of a pepsin digestion method for analysis of shellfish for *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts”. *J. Food Prot.* 71:959-966.
- Schets F.M., Van den Berg H.H.J.L., Engels G.B., Lodder W.J. and de Roda Husman A.M. (2007). “*Cryptosporidium* and *Giardia* in commercial and non-commercial oysters (*Crassostrea gigas*) and water from Oosterschelde, The Netherlands”. *Int. J. Food Microbiol.* 113:189-194.
- Xunde Li, Guyot K., Dei-Cas E., Mallard J.P., Ballet J.J. and Brasseur P. (2006). “*Cryptosporidium* oocysts in mussels (*Mytilus edulis*) from Normandy (France)”. *International Journal of Food Microbiology* 108: 321-325.

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

L'attuazione del progetto di ricerca consentirebbe l'acquisizione di ulteriori dati epidemiologici sulla presenza di protozoi zoonosici dei generi *Cryptosporidium*, *Giardia* e *Toxoplasma* in *Mytilus galloprovincialis* e *Mytilus edulis* allevati in Sardegna e di dati, finora non disponibili, relativi alla eventuale presenza e al livello di contaminazione da *Cyclospora Cayetanensis*.

Il Progetto si propone altresì di estendere la ricerca di tali agenti parassitari di zoonosi anche ad altre specie di molluschi bivalvi (*Tapes decussatus*, *Crassostrea gigas*), ad altre zone di allevamento della Sardegna e a prodotti extra-isolani destinati al consumo umano diretto, nell'ambito del circuito commerciale regionale.

Per le autorità sanitarie regionali e locali sarebbe importante, in relazione alla programmazione dei controlli sanitari sulle produzioni locali, acquisire conoscenze aggiornate sui livelli di contaminazione dei MEL da tali agenti parassitari di zoonosi, sia per motivi scientifici che, soprattutto, per la possibilità di acquisizione di elementi oggettivi e scientificamente sostenibili utili ai fini della valutazione del rischio connesso al consumo dei molluschi bivalvi e delle eventuali decisioni da assumere. L'acquisizione di tali dati può altresì configurarsi come un ulteriore parametro a disposizione dell'autorità sanitaria per la valutazione delle caratteristiche igienico sanitarie dei MBV destinati al consumo umano diretto, in linea con quanto previsto dal Reg. CE n. 882/04 nei casi in cui vengano evidenziati "nuovi" pericoli emergenti e sia pertanto necessario procedere alla relativa valutazione del rischio rilevato.

Il Progetto proposto si propone inoltre di mettere a punto tecniche diagnostiche più avanzate ed innovative rispetto a quelle attualmente in uso nel Laboratorio, quali Real Time PCR e Sequenziamento degli isolati ai fini della identificazione e caratterizzazione dei genotipi zoonotici.

La genotipizzazione degli isolati è di fondamentale importanza per l'identificazione delle fonti di infezione e dei veicoli alimentari che possono fungere da serbatoi di protozoi zoonosici e che pertanto possono rappresentare un rischio per la salute umana.

Nel caso di *Giardia duodenalis*, ad esempio, sulla base delle più recenti acquisizioni è stato dimostrato che alcuni genotipi (A e B) possono essere condivisi dagli animali e dall'uomo; altri assemblaggi sono geneticamente uniformi e sembrano confinati esclusivamente ad ospiti animali (C, D, E, F e G).

Per quanto riguarda i protozoi del genere *Cryptosporidium*, diverse altre specie infettano l'uomo, (oltre a *Cryptosporidium hominis* riconosciuto oggi come specie specifico dell'uomo), quali ad esempio *C. parvum* (genotipo II) *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. muris* e *C. ubiquitum*. Relativamente a *Toxoplasma gondii*, specifici markers genetici hanno confermato l'esistenza di una popolazione clonale con 3 genotipi dominanti: il tipo I e II, che si isolano dall'uomo infetto per via congenita ed in pazienti con AIDS e il tipo III, che si isola frequentemente dagli animali.

3. Metodologia

Le fasi metodologiche di attuazione sono di seguito descritte nei punti a, b e c

a) Acquisizione di dati sulla presenza e sul livello di contaminazione da *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, *Toxoplasma gondii* e *Cyclospora cayetanensis* nella filiera produttiva dei molluschi bivalvi vivi della Sardegna

L'indagine sarà effettuata su un campione rappresentativo di molluschi bivalvi vivi appartenenti alle specie *M.galloprovincialis*, *M. edulis*, *T. decussatus* e *C. gigas* provenienti da diverse aree di allevamento della Sardegna, in collaborazione con i Servizi Veterinari delle AA.SS.LL. territorialmente competenti, ai fini della ricerca e caratterizzazione genetica di *Cryptosporidium spp.*, *Giardia duodenalis*, *Toxoplasma gondii* e *Cyclospora cayetanensis* attraverso l'utilizzo di tecniche avanzate di biologia molecolare, quali Real Time PCR e Sequenziamento, in collaborazione con l'Università di Foggia (Dipartimento di Scienze agrarie, Alimenti e Ambiente). Le sopracitate metodiche consentono di effettuare la genotipizzazione degli isolati mediante l'utilizzo di specifici markers genetici, di fondamentale importanza per l'identificazione delle fonti di infezione e degli alimenti che possono fungere da serbatoi dei protozoi di interesse zoonosico.

Dal punto di vista metodologico, nel caso di *Cryptosporidium spp.*, tra i diversi geni che sono stati studiati, il 18S dell'RNA ribosomiale (rRNA) e il COWP sono considerati i migliori target genetici per l'identificazione e la genotipizzazione del protozoo. Per la genotipizzazione di *Giardia spp.* sono stati invece utilizzati, tra gli altri, il 18S dell'RNA ribosomiale (rRNA), il *gdh*, il *tpi*, la β -*giardina*; relativamente a *Toxoplasma gondii* e *Cyclospora cayetanensis* i target genetici di riferimento sono rispettivamente il gene B1 e l'ITS -2.

b) Messa a punto di un metodo Real time PCR per l'identificazione di *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, *Toxoplasma gondii* e *Cyclospora cayetanensis* direttamente dai Molluschi bivalvi

La ricerca e l'identificazione dei protozoi dei generi *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxoplasma* e *Cyclospora* attraverso Real Time PCR sarà condotta sul DNA estratto da pool di branchie ed ghiandole digestive provenienti dalle diverse specie di molluschi bivalvi oggetto dell'indagine; in particolare, si procederà all'amplificazione di porzioni geniche caratterizzanti le specie di interesse.

c) Caratterizzazione molecolare degli isolati di *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, *Toxoplasma gondii* e *Cyclospora cayetanensis*

La caratterizzazione biomolecolare degli amplificati verrà eseguita attraverso l'analisi di sequenze specifiche, che verranno confrontate con quelle già presenti nelle banche dati internazionali, per l'attribuzione degli isolati ai diversi genotipi conosciuti.

d) Contributo alla valutazione del rischio da *protozoi zoonosici* associato al consumo di molluschi bivalvi e alla preservazione delle produzioni

La preservazione di queste produzioni a filiera corta presuppone l'attuazione di strategie di valorizzazione basate sulla definizione degli standards di prodotto e di processo e sulla documentazione delle caratteristiche di sicurezza richieste dalla legislazione in materia di sicurezza alimentare e dai mercati.

Relativamente alla valutazione del rischio, si procederà all'acquisizione di ulteriori dati utili ai fini di una iniziale valutazione quantitativa del rischio, con particolare riferimento alle fasi di identificazione e caratterizzazione del pericolo.

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

I dati acquisiti nel corso della Ricerca saranno resi noti e fruibili mediante comunicazioni a Congressi, pubblicazioni scientifiche, incontri formativi destinati agli Operatori del settore e della Sanità pubblica, pubblicazione nel sito internet dell'Ente.

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

Il progetto è caratterizzato dalla azione sinergica e integrata di diverse componenti professionali (Medici Veterinari e Biologi) dell'I.Z.S. della Sardegna e dell'Università di Foggia caratterizzate, ciascuna nel proprio ambito, da elevata specializzazione tecnico-scientifica (esperti nel campo della sicurezza alimentare, della parassitologia, della epidemiologica molecolare, della diagnostica di laboratorio). Il lavoro fra i partecipanti di diverse professionalità, appartenenti a Enti di ricerca diversi, rappresenta un momento di attività integrata, secondo quanto dettato dalle più moderne modalità di lavoro in equipe.

6. Descrizione e spiegazione dell'articolazione del programma in fasi

WP1: Individuazione degli allevamenti oggetto di indagine e dei Centri di depurazione (CDM) e di spedizione (CSM); accordi operativi con i Servizi Veterinari delle AA.SS.LL. territorialmente competenti e con gli OSA interessati.

WP2: Prelievo campioni di molluschi bivalvi vivi presso allevamenti, stabilimenti, circuito commerciale

WP3: Ricerca dei protozoi zoonosici di interesse mediante Real Time PCR

WP4 calcolo degli indici epidemiologici ed elaborazione statistica dei dati, ottimizzazione delle *performances* delle tecniche diagnostiche utilizzate, caratterizzazione molecolare degli isolati

WP5: analisi e elaborazione generale dei dati

7. Output del programma (es. documenti; metodologie; corsi di formazione, attivazione di servizi, etc.) con indicazione dei tempi previsti per la presentazione

I risultati del progetto verranno resi disponibili tramite:

- comunicazioni orali e poster in occasione di Convegni scientifici
- pubblicazioni a stampa su riviste specializzate di settore
- pubblicazione sul sito internet dell'Ente
- materiale informativo finalizzato alla formazione degli Operatori del comparto della molluschicoltura.
- Attivazione di un servizio diagnostico mediante messa a punto di metodiche di analisi e di conferma per la ricerca di protozoi zoonosici di interesse nei molluschi bivalvi
- Alimentazione del Sito www.ars-alimentaria.it tramite l'inserimento di schede riguardanti prodotti, processi, presenza di protozoi zoonosici potenzialmente patogeni nella filiera della molluschicoltura

Le attività sopra definite saranno realizzate entro i 12 mesi successivi alla conclusione del progetto.

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

Obiettivi:

- Raccolta e analisi di dati epidemiologici sulla presenza e livello di contaminazione da *Cryptosporidium spp.* e *Giardia spp.* *Toxoplasma gondii* e *Cyclospora cayetanensis* nei molluschi bivalvi prelevati nelle principali aree di produzione della Sardegna e nel circuito commerciale regionale;
- messa a punto e standardizzazione di metodi di identificazione e caratterizzazione utilizzabili a fini diagnostici dagli Operatori del SSN;
- contributo alla valutazione del rischio sanitario per i consumatori

Indicatori:

- Disponibilità e fruibilità dei dati per gli utenti
- Trasferimento dei dati riguardanti la caratterizzazione e l'analisi del rischio su una banca dati presente su Internet (Sito Internet www.ars-alimentaria.it)
- Produzione del materiale informativo per gli Operatori del settore (produttori, SSN)

Cronogramma del progetto (Max.1 pagina)

Fasi	Mese																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
WP1	■	■	■																					
WP2				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■					
WP3				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■					
WP4				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			
WP5																						■	■	■

Tabella n. 1 (compilare solo per la voce “Borse di Studio”)

Titolo del progetto: Ricerca di Protozoi zoonosici dei generi *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxoplasma* e *Cyclospora* in molluschi bivalvi allevati e commercializzati nella Regione Sardegna e sviluppo di tecniche biomolecolari per la caratterizzazione genetica degli isolati

Durata del progetto (espressa in mesi): 24

Responsabile scientifico Cognome

Nome

VOCE DI SPESA	Importo	Descrizione
Borsa di studio		Laureato in Scienze Biologiche con specializzazione in Microbiologia e Virologia

Firma del Responsabile Scientifico del progetto

Firmato Dr. Sebastiano Virgilio