



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca e dell’Innovazione in Sanità

Rendiconto 5 per mille ANNO 2020
Contributo percepito € € 166.618,99 In data 28/10/2021

Ente della Ricerca Sanitaria
Denominazione Ente: IRCCS Ospedale Sacro Cuore Don Calabria
Codice fiscale: 00280090234

Responsabile del progetto:

Chiara Piubelli, PhD coordinatore ricerca biomedica

Titolo del progetto:

Implementazione di nuove attività di colture cellulari e virali per lo studio delle malattie infettive e tropicali

Sintesi Progetto - Abstract:

Con la conclusione e l'avvio dei nuovi laboratori di livello BSL2 e BSL3 presso il Dipartimento di Malattie Infettive, Tropicale e Microbiologia (DITM), sarà necessario implementare una serie di nuove attività di colture cellulari e virali, che serviranno da supporto ai progetti del gruppo di ricerca, in particolare per la messa a punto di nuovi test diagnostici e nello studio della patogenesi delle malattie infettive affrontate nel nostro centro, quali il COVID-19, la malaria, le arbovirosi etc. In particolare, saranno avviate sia colture di patogeni (es. SARS-CoV-2, Plasmodium falciparum, Leishmania spp.) sia colture di cellule primarie o stabilizzate umane (leucociti, cellule polmonari, cellule epiteliali etc.) per supportare per esempio gli studi di interazione tra ospite e patogeno o di resistenza ai farmaci oppure per la realizzazione di nuovi test diagnostici che possano soddisfare le esigenze cliniche.

Data di inizio progetto: 01/03/2022

Data di fine progetto: 28/02/2024

Fondi 5 per mille assegnati al progetto: 57.150,02

Di cui:
Quota sostenuta entro l'anno di rendicontazione: € 1.671,40

| | |
|--|---|
| | Quota accantonata, da sostenere, per progetti pluriennali (durata massima tre anni): € 55.478,62 |
|--|---|

| VOCI DI SPESA | Quota sostenuta entro l'anno di rendicontazione | Quota accantonata, da sostenere, per progetti pluriennali (durata massima tre anni) |
|---|--|--|
| Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte) | 0 | € 25.000 |
| Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing) | 1.671,40 | 16.845,73 |
| Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, acquisto farmaci ecc.) | 0 | 13.632,89 |
| Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi e missioni ecc.) | 0 | € 0 |
| Elaborazione dati | 0 | 0 |
| Spese amministrative | 0 | € 0 |
| Altro (indicare quali) | € 0 | € 0 |
| TOTALE | € 1.671,40 | € 55.478,62 |



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca e dell’Innovazione in Sanità

Rendiconto 5 per mille ANNO 2020
Contributo percepito € € 166.618,99 In data 28/10/2021

Ente della Ricerca Sanitaria
Denominazione Ente: IRCCS Ospedale Sacro Cuore Don Calabria
Codice fiscale: 00280090234

Responsabile del progetto:

Elena Pomari, PhD ricercatrice biologa

Titolo del progetto:

Bacillus thuringiensis (gruppo Bacillus cereus) come possibile antagonista di Strongyloides stercoralis e di altri elminti correlati con malattie tropicali neglette (NTD), alla base di una strategia di prevenzione

Sintesi Progetto - Abstract:

Microbion è una impresa che presenta consolidata esperienza in ambito microbiologico e ha mostrato interesse nel collaborare con il nostro dipartimento in altri progetti.

In particolare, il presente progetto si propone di investigare ceppi di Bacillus thuringiensis in quanto alcuni di questi sono in grado di produrre la tossina Cry5B, attiva contro nematodi ed elminti, tra cui Strongyloides stercoralis. Altre tossine attive, ma meno caratterizzate per la loro azione contro Strongyloides stercoralis sono costituite dalle tossine Cry14A e Cry21A.

B. thuringiensis è strettamente correlato con B. cereus, specie di cui alcuni ceppi che producono la tossina Cereulide, termostabile, che induce sindrome emetica. Tossine termolabili, in grado di provocare sindrome diarroica nell'uomo, sono diffuse sia in ceppi della specie B. thuringiensis che nella specie B. cereus. Il carattere tossinogeno è strettamente ceppo-dipendente e dipende dal corredo genetico del singolo ceppo; alcuni ceppi di B. cereus, infatti, non producono tali tossine e trovano impiego nell'ambito della nutrizione animale. Per superare i problemi legati all'ambiguità dell'identificazione

fenotipica per *B. cereus* e *B. thuringiensis* su piastra e per definire il livello di rischio legato a specifici ceppi di *B. thuringiensis*, l'Autorità Europea per la Sicurezza alimentare (EFSA) ha definito delle linee guida che impiegano metodi basati sul DNA.

Nel 2013 è stato proposto *B. toyonensis*, una nuova specie del gruppo di *B. thuringiensis* / *B. cereus* che è autorizzata come integratore alimentare per la mangimistica animale.

Gli isolati presunti *B. cereus* tra cui anche *B. thuringiensis* possono essere caratterizzati tramite approccio molecolare per determinare il profilo genetico correlato con la produzione di tossine responsabili di: sindrome emetica (solo *B. cereus*) e diarroica (solo *B. cereus* e *B. thuringiensis*). A supporto di ciò, abbiamo ottenuto alcuni dati preliminari che mostrano come il MALDI-TOF (disponibile presso il nostro dipartimento) non riesca a caratterizzare gli isolati a livello di ceppo, distinguendo ceppi tossinogeni da quelli non tossinogeni. Da qui l'idea di sviluppare una pipeline di identificazione dei ceppi che prevede una caratterizzazione su base proteica (MALDITOF) e anche su base genetica e di investigare gli effetti antagonisti di alcuni di questi ceppi contro *S. stercoralis*. Questo in un'ottica di prevenzione della salute e ambientale per potenziali utilizzi futuri.

| | |
|---|--|
| Data di inizio progetto: 21/03/2022 | Data di fine progetto: 20/03/2024 |
| Fondi 5 per mille assegnati al progetto: € 18.518,97 | Di cui: Quota sostenuta entro l'anno di rendicontazione: € 6.649 Quota accantonata, da sostenere, per progetti pluriennali (durata massima tre anni): € 11.869,97 |

| VOCI DI SPESA | Quota sostenuta entro l'anno di rendicontazione | Quota accantonata, da sostenere, per progetti pluriennali (durata massima tre anni) |
|---|--|--|
| Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte) | € 0 | € 3.564,97 |
| Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing) | € 0 | € 0 |
| Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, acquisto farmaci ecc.) | € 3.172 | € 1.828 |
| Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi e missioni ecc.) | € 0 | € 3.000 |
| Elaborazione dati | € 0 | € 0 |

| | | |
|--|---------|-------------|
| Spese amministrative | € 0 | € 0 |
| Altro (Analisi genetica e bioinformatica con clustering di ceppi sulla base di dati genetici e di MALDI-TOF) | € 3.477 | € 3.477 |
| TOTALE | € 6.649 | € 11.869,97 |



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca e dell’Innovazione in Sanità

Rendiconto 5 per mille ANNO 2020
Contributo percepito € € 166.618,99 In data 28/10/2021

Ente della Ricerca Sanitaria
Denominazione Ente: IRCCS Ospedale Sacro Cuore Don Calabria
Codice fiscale: 00280090234

Responsabile del progetto:

Francesca Tamarozzi, PhD ricercatrice infettivologa

Titolo del progetto:

Droplet-digital PCR per il rilevamento del DNA libero circolante circolante in pazienti con echinococcosi cistica: studio esplorativo

Sintesi Progetto - Abstract:

L'echinococcosi cistica è una zoonosi parassitaria negletta causata dall'infezione con lo stadio larvale (cisti da echinococco) del cestode *Echinococcus granulosus sensu lato*. Il parassita è prevalente in tutte le aree del mondo dove è praticata la pastorizia, in quanto il suo ciclo biologico naturale si svolge tra il cane e gli ungulati domestici. L'area del Mediterraneo, inclusa l'Italia, e l'Est Europa sono tra le aree a maggiore endemia del mondo, assieme a Cina, Centro-Asia, Sud America, e Africa orientale (Deplazes et al 2017). In Italia, i pazienti con echinococcosi cistica (solo gli ospedalizzati stimati in oltre 900 casi/anno per un costo di 4 milioni/anno) sono sia italiani che stranieri prevalentemente provenienti dall'Europa orientale o dal Nord Africa (Piseddu et al 2017). Nella sola Regione Veneto, è stata recentemente stimata una spesa di 0,5 milioni di Euro all'anno per questa parassitosi (Cassini et al 2021). La diagnosi di echinococcosi cistica si basa sulle metodiche di immagine (ecografia lo strumento principale) mentre la sierologia, che ha performance non ottimali, ha un ruolo complementare nei casi in cui l'immagine non è dirimente. Tuttavia, le metodiche di immagine e soprattutto l'esperienza per interpretarle in funzione di una diagnosi di echinococcosi non sono sempre disponibili. A

complicare la corretta diagnosi e gestione clinica del paziente si aggiungono la eterogeneità della morfologia delle cisti da echinococco (che si sviluppano in stadi) che rendono la diagnosi differenziale molto vasta (da lesioni benigne a neoplasie maligne) e l'incapacità della sierologia di indicare la vitalità del parassita. Attualmente non sono disponibili test di ricerca di antigeni parassitari circolanti. Ne risulta che sia la diagnosi di infezione (individuale o per screening di popolazione) che il follow-up sono dipendenti dalle metodiche di immagini. L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha indicato la diagnosi e mappatura dell'echinococcosi cistica come aree "critiche" e "prioritarie" nella "Roadmap per le Malattie Neglette 2021-2030" (World Health Organization 2020). Per questo fine, lo sviluppo di strumenti di laboratorio, idealmente sviluppabili in formato "point-of-care", sarebbe auspicabile per supportare queste attività e la gestione clinica del paziente nelle aree endemiche più remote e/o dove l'expertise di interpretazione delle metodiche di diagnostica per immagini non sia presente.

La droplet-digital PCR (ddPCR) è una metodica di amplificazione del DNA che si è rivelata più sensibile e precisa rispetto alle metodiche classiche di PCR, attualmente sempre più disponibile e utilizzata in campo oncologico e delle malattie infettive, incluse quelle parassitarie (Kuypers et al. 2017, Olmedillas-López et al. 2021; Pomari et al. 2019). Tuttavia, questa metodica è stata applicata alla diagnosi di echinococcosi in un solo lavoro pubblicato, avente come oggetto l'echinococcosi alveolare causata da *Echinococcus multilocularis* (Baraquin et al 2018).

Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare in via preliminare la sensibilità della ddPCR per il rilevamento di cfDNA nella diagnosi di echinococcosi cistica e di generare dati per il suo potenziale uso anche per la discriminazione della presenza di infezione attiva/inattiva e il follow-up post-terapia, da esplorare in studi successivi.

| | |
|--|--|
| Data di inizio progetto: 21/03/2022 | Data di fine progetto: 20/03/2024 |
| Fondi 5 per mille assegnati al progetto: € 22.550 | Di cui: Quota sostenuta entro l'anno di rendicontazione: € 86,40 Quota accantonata, da sostenere, per progetti pluriennali (durata massima tre anni): € 22.463,60 |

| VOCI DI SPESA | Quota sostenuta entro l'anno di rendicontazione | Quota accantonata, da sostenere, per progetti pluriennali (durata massima tre anni) |
|---|--|--|
| Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte) | € 0 | € 5.800 |
| Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing) | € 0 | € 0 |
| Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, acquisto farmaci ecc.) | € 0 | € 11.000 |
| Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi e missioni ecc.) | € 86,40 | € 3.613,60 |
| Elaborazione dati | € 0 | € 0 |
| Spese amministrative | € 0 | € 2.050 |
| Altro (indicare) | € 0 | € 0 |
| TOTALE | € 86,40 | € 22.463,60 |



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca e dell’Innovazione in Sanità

Rendiconto 5 per mille ANNO 2020
Contributo percepito € € 166.618,99 In data 28/10/2021

Ente della Ricerca Sanitaria
Denominazione Ente: IRCCS Ospedale Sacro Cuore Don Calabria
Codice fiscale: 00280090234

Responsabile del progetto:

Dott. Federico Gobbi, PhD Direttore dell’Unità Operativa Complessa di Malattie Infettive e Tropicali, Vice-Direttore Scientifico

Titolo del progetto:

Loiasi e lesioni spleniche: studio pilota di coorte in Gabon

Sintesi Progetto - Abstract:

La loiasi è la malattia tropicale negletta causata dall'infezione con il parassita filaride *Loa loa*, endemico in Africa centrale e occidentale. Si stima che circa 20 milioni di persone risiedano in area a medio e alto rischio di infezione. Le manifestazioni cliniche della loiasi sono per lo più aspecifiche, ma recentemente sono stati dimostrati un significativo aumento della mortalità e una rilevante morbosità nei pazienti con alta carica parassitaria. La milza è un organo centrale nella risposta ai patogeni, e recentemente è stata posta l'attenzione sulla presenza, più frequente di quanto normalmente riconosciuto, di granulomi (noduli) splenici associati a questa infezione, probabilmente derivanti dall'eliminazione delle forme larvali circolanti del parassita (microfilarie). Da un lato queste lesioni focali entrano in diagnosi differenziale con altre patologie, anche neoplastiche, ed espongono il paziente al rischio di splenectomia immotivata, dall'altro le conseguenze a lungo termine di questo coinvolgimento splenico della milza nella loiasi non sono note.

Lo scopo di questo studio osservazionale è di valutare la prevalenza delle lesioni focali della milza in individui gabonesi con loiasi e la loro evoluzione dopo il trattamento standard. Il disegno dello studio comprende una fase di valutazione cross-sectional seguita dallo studio osservazionale di coorte longitudinale di un sottogruppo di soggetti. Lo studio sarà condotto su circa 340 individui di età ≥ 12 anni che vivono nelle province di Moyen Ogooue e Ngounie, Gabon in collaborazione con il Centre de Recherches

Médicales de Lambaréné (CERMEL). Sulla base della prevalenza di L. loa nell'area, è prevista l'inclusione di 200 soggetti infetti. Gli individui saranno classificati come infetti o non infetti in base alla valutazione delle microfilarie circolanti e/o alla segnalazione di segni patognomnici di loiasi (edema di Calabar, anamnesi di migrazione oculare del parassita [eyeworm], come da protocollo RAPLOA) negli ultimi 12 mesi. Le infezioni parassitarie diagnosticate durante l'esame del sangue saranno trattate gratuitamente secondo le raccomandazioni del Gabon. I noduli della milza saranno valutati mediante screening ecografico e rivalutati 12 mesi dopo il trattamento standard per la loiasi.

| | |
|---|---|
| Data di inizio progetto: 31/05/2022 | Data di fine progetto: 30/05/2023 |
| Fondi 5 per mille assegnati al progetto: € 68.400,00 | Di cui: Quota sostenuta entro l'anno di rendicontazione: € 8.150 Quota accantonata, da sostenere, per progetti pluriennali (durata massima tre anni): € 60.250 |

| VOCI DI SPESA | Quota sostenuta entro l'anno di rendicontazione | Quota accantonata, da sostenere, per progetti pluriennali (durata massima tre anni) |
|---|--|--|
| Personale di ricerca (borsista, a contratto e di ruolo in quota parte) | 0 | € 7.000 |
| Apparecchiature (ammortamento, canone di locazione/leasing) | 0 | 0 |
| Materiale d'uso destinato alla ricerca (per laboratori di ricerca, acquisto farmaci ecc.) | 0 | 0 |
| Spese di organizzazione (manifestazioni e convegni, viaggi e missioni ecc.) | 0 | € 6.000 |
| Elaborazione dati | 0 | 0 |
| Spese amministrative | 0 | € 1.400 |
| Altro (indicare quali) | € 8.150 | € 45.850 |
| TOTALE | € 8.150 | € 60.250 |