

UOC MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA

Direttore: Dott. Luigi Atripaldi

*Batteriologia 0817062545- Micobatteriologia 0817062531- Biologia molecolare - Virologia 0815908319-279-403
Parassitologia 0817067399 - Accettazione Monaldi 0817062363- Accettazione Cotugno 0815908340*



AORN Ospedali dei Colli

21/06/2022 10.58.39

AOC/0022975/2022

AL DIRETTORE GENERALE AORN Dei COLLI

AL DIRETTORE SANITARIO AORN Dei COLLI

**AL DIRETTORE AMMINISTRATIVO AORN Dei COLLI
SEDE**

Oggetto: Richiesta pubblicazione manifestazione di interesse per la realizzazione del progetto:
"Studio epidemiologico delle infezioni causate da parassiti, in particolare da *Cryptosporidium* e
Giardia, dalla tipizzazione molecolare al sequenziamento del genoma e resistenza ai farmaci".

In riferimento alla realizzazione di uno studio multicentrico teso alla identificazione di parassiti responsabili di processi patologici nell'uomo, in collaborazione all' Azienda Ospedaliera Universitaria "Luigi Vanvitelli", Azienda Ospedaliera dei Colli-Cotugno, Azienda Ospedaliera Universitaria San Giovanni di Dio Ruggi D' Aragona ed Istituto Superiore di Sanità,
si chiede alle S.V.

la pubblicazione del progetto per una manifestazione di interesse alla copertura finanziaria per la sua realizzazione.

Mepl. L. 20.6.2022




PROGETTO
DATI GENERALI DEL PROGETTO

TITOLO: Studio epidemiologico delle infezioni causate da parassiti, in particolare da *Cryptosporidium* e *Giardia*, dalla tipizzazione molecolare al sequenziamento del genoma e resistenza ai farmaci.

DURATA DEL PROGETTO: 3 anni

COSTO: 12.000/anno

CAPO PROGETTO: Prof. Massimiliano Galdiero		
UNITA' OPERATIVE COINVOLTE		
Unità Operativa 1	Referente	Compiti
Azienda Ospedaliera Universitaria "Luigi Vanvitelli"	Prof. Massimiliano Galdiero E-mail: massimiliano.galdiero@unicampania.it	<ul style="list-style-type: none"> -Raccolta campioni fecali - Diagnosi - Collaborazione alla formazione del personale delle Unità Operative coinvolte nel progetto - Divulgazione dei risultati attraverso la pubblicazione di articoli e la partecipazione a congressi nazionali e internazionali
Unità Operativa 2	Referente	Compiti
Azienda Ospedaliera dei Colli- Cotugno	Dott. Maria Grazia Coppola E-mail: mariagrazia.coppola@ospedalideicolli.it	<ul style="list-style-type: none"> -Raccolta campioni fecali - Diagnosi - Formazione del personale delle Unità Operative coinvolte nel progetto - Divulgazione dei risultati attraverso la pubblicazione di articoli e la partecipazione a congressi nazionali e internazionali
Unità Operativa 3	Referente	Compiti
Azienda Ospedaliera Universitaria San Giovanni di Dio Ruggi d'Aragona	Prof. Gianluigi Franci E-mail: gfranci@unisa.it	<ul style="list-style-type: none"> -Raccolta campioni fecali - Diagnosi - Divulgazione dei risultati attraverso la pubblicazione di

		articoli e la partecipazione a congressi nazionali e internazionali
Unità Operativa 4	Referente	Compiti
Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Malattie Infettive	Dott. Simone M.Cacciò E-mail: simone.caccio@iss.it	- Tipizzazione molecolare di <i>Cryptosporidium</i> e <i>Giardia</i> da campioni umani -Sequenziamento genomico di isolati di <i>Cryptosporidium</i> e <i>Giardia</i> -Divulgazione dei risultati attraverso la pubblicazione di articoli e la partecipazione a congressi nazionali e internazionali

Razionale del progetto

Le infezioni parassitarie intestinali rappresentano un grave problema di salute in tutto il mondo. Si stima che circa 3,5 miliardi di persone siano infette da parassiti intestinali. Tra i più comuni protozoi intestinali si annoverano specie di *Giardia* e *Cryptosporidium*, che sono causa di disturbi gastrointestinali in un ampio spettro di ospiti, inclusi uomo, animali selvatici e da compagnia. Questi parassiti vengono espulsi nell'ambiente con le feci, in una forma resistente, definita cistica. Una volta ingerita, la cisti resiste agli acidi gastrici e arrivata nell'intestino tenue, libera gli stadi infettivi (trofozoita o sporozoita). Questi aderiscono alla mucosa intestinale duodenale (*Giardia*) o penetrano negli enterociti (*Cryptosporidium*) ed iniziano a replicarsi, causando la caratteristica sintomatologia clinica. Il ciclo vitale si conclude con la formazione di cisti/oocisti, che vengono eliminate attraverso le feci.

L'infezione viene principalmente trasmessa per contatto diretto mediante il circuito oro-fecale attraverso il consumo di acqua o cibo contaminati. Secondo l'OMS, anche l'ingestione di poche cisti di *Giardia* (10-100) può causare infezione. Dopo l'ingestione delle forme cistiche possono svilupparsi dolori addominali, perdita di peso e disidratazione, più raramente possono comparire anche febbre e vomito. Si può avere una forma sintomatica cronica o acuta con sintomi che possono durare 2-4 settimane. Una parte delle persone infettate guarisce ma nel 30-50% dei casi la patologia cronicizza. In questi soggetti il parassita si replica a fasi intermittenti con diarrea ricorrente. I sintomi possono dipendere dalla carica infettante e dalla suscettibilità individuale (età, stato di nutrizione e immunitario del paziente). Queste parassitosi sono in netto aumento, come desunto da dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS).

Dal report dall' ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) dell' anno 2017 è stato stimato un aumento di 5,5 casi di giardiasi su 100000 abitanti, con un sostanziale incremento in Belgio, Estonia e Svezia, e con un'incidenza di rilievo nei bambini la cui età era compresa tra 0 e 4 anni. Inoltre, si è stimato un costante incremento di casi dal 2013 al 2017: in Europa, nel 2013 sono stati registrati 16539 casi, mentre nel 2017 esattamente 19451. Secondo l' ECDC si è evinto un aumento dei casi (14292) di criptosporidiosi in Belgio, Irlanda e Norvegia nel 2018, con un incremento pari a 15, 8 in bambini come per *Giardia*. La chemioterapia è ampiamente utilizzata per il trattamento di pazienti sintomatici e per ridurre la trasmissione di questi protozoi. L'emergere di ceppi di parassiti resistenti ai farmaci disponibili è favorito da un loro uso massiccio o indiscriminato, specie di *Giardia* clinicamente resistente al Metronidazolo e Nitazoxanide sono stati

recentemente ben documentati anche in contesti a bassa prevalenza. (Nota bibliografica: Nitroimidazole- refractory giardiasis: a growing problem requiring rational solutions- E. R. Carter et al.). Studi recenti in pazienti affetti da giardiasi hanno rivelato che l'infezione refrattaria al Metronidazolo si verifica fino al 40% dei casi, causando serie complicanze cliniche nel paziente infetto. In Inghilterra il fallimento del trattamento è aumentato dal 15,1% nel 2008 al 40,2% nel 2013. Ad oggi, dati sulla resistenza al Nitazoxanide delle specie di *Cryptosporidium* rimane completamente non esaminata, per cui studi di sorveglianza potrebbero essere necessari. (Nota bibliografica: Drug resistance in the Microaerophilic Parasite *Giardia lamblia*- David Leitschet et al.).

In questo contesto, lo scopo del presente progetto è finalizzato alla valutazione della diffusione delle parassitosi intestinali in ambito territoriale e regionale, con implementazione della rete formativa ed informativa del personale collaborante delle strutture afferenti. Pertanto, da tale compliance, ritenendo opportuno osservare la reale diffusione di queste protozooosi e le sequenze genomiche di ceppi di *Giardia* (dopo allestimento di colture cellulari) e *Cryptosporidium* si intende attuare un dettagliato controllo della diffusione delle enteriti da protozoi ed aumentarne le conoscenze.

Scopo del lavoro:

Il progetto si prefigge di:

- 1) Raccogliere i campioni fecali dalle Unità di riferimento (Azienda Ospedaliera dei Colli-Cotugno, Azienda Ospedaliera Universitaria “Luigi Vanvitelli”, Azienda Ospedaliera Universitaria San Giovanni di Dio Ruggi d'Aragona) per una diagnosi parassitologica di elevata qualità mediante tecniche altamente sensibili ed accurate;
- 2) Catalogare i campioni positivi e formare il personale delle strutture afferenti di riferimento (Azienda Ospedaliera dei Colli-Cotugno, Azienda Ospedaliera Universitaria “Luigi Vanvitelli”, Azienda Ospedaliera Universitaria San Giovanni di Dio Ruggi d'Aragona), quali laboratori, reparti ospedalieri, ambulatori, centri coinvolti nella diagnostica parassitologica, mediante seminari circa l'eziologia, la sintomatologia, la diagnosi e le terapie delle suddette parassitosi. A tal proposito, per facilitare la diagnosi ed ampliare la rete delle conoscenze circa il trattamento delle parassitosi, risulta di fondamentale importanza fornire un appropriato supporto tecnico-scientifico. In questo senso, si procederà con l'allestimento di schede anamnestiche, inclusi questionari estesi al nucleo familiare, per valutare possibili trasmissioni secondarie (esempio, trasmissione secondaria madre-figlio) ed eventuali focolai. Inoltre, saranno considerati i fattori di rischio connessi, e fornite le istruzioni necessarie per un corretto campionamento. Infine, verranno considerate le azioni utili a sensibilizzare i cittadini residenti e le autorità addette al trattamento delle infezioni parassitarie.
- 3) Caratterizzare con opportune tecniche molecolari, mediante test diagnostico qualitativo automatizzato per la rilevazione della presenza di marcatori di acidi nucleici corrispondenti ai più comuni protozoi, elminti e microsporidi, da campioni di feci umane, inoculati in provette stabilizzanti con particolare riferimento all'identificazione molecolare di ceppi di *Giardia* e *Cryptosporidium* che saranno raccolti dalle Unità coinvolte.
- 4) Sequenziare i genomi di *Giardia* e *Cryptosporidium* attraverso tecnologie di seconda generazione (Whole Genome Sequencing, WGS) ed opportune tecniche bioinformatiche. Lo scopo è di paragonare i nuovi genomi con quelli disponibili, valutare i genotipi diffusi nel territorio, stimare la trasmissione zoonotica e, nel caso di *Giardia* e previa allestimento di colture, studiare i meccanismi di resistenza ai farmaci antiparassitari (Istituto Superiore di Sanità);
- 5) Divulgare i risultati ottenuti attraverso la pubblicazione di articoli e mediante comunicazioni a congressi nazionali e internazionali.

Obiettivi Generali:

- Monitoraggio delle infezioni da parassiti, con particolare riferimento a *Giardia* e *Cryptosporidium* nella Regione Campania. Caratterizzazione molecolare dei ceppi parassitari, di *Giardia* e *Cryptosporidium* identificati anche mediante studi a livello genomico. Studio della resistenza di *Giardia* ai farmaci antiparassitari.

Obiettivi Specifici:

- Raccolta dei campioni fecali e diagnosi microbiologica di parassitosi con particolare riferimento a casi di giardiasi e criptosporidiosi.
- Implementazione di una rete di conoscenza e di formazione specifica del personale delle Unità coinvolte mediante seminari, corsi di aggiornamento riguardanti le tecniche diagnostiche tradizionali e innovative e percorsi assistenziali.
- Utilizzo di tecniche molecolari standard (PCR per l'amplificazione degli acidi nucleici target e microarray per l'identificazione dei target amplificati attraverso il legame con fluoro cromi) per l'identificazione a livello di specie e di genotipo dei parassiti presenti nei campioni fecali. Analisi comparative dei dati ottenuti in rapporto alle attuali conoscenze sia in ambito Italiano che Europeo.
- Sequenziamento dei genomi di isolati umani di *Giardia* e *Cryptosporidium* raccolti dalle Unità coinvolte.
- Analisi dei dati di sequenziamento per epidemiologia genomica e, nel caso di *Giardia*, per studiare la resistenza ai farmaci antiparassitari.
- Divulgare i risultati ottenuti attraverso la pubblicazione di articoli e mediante la partecipazione a congressi nazionali e internazionali.

Breve sintesi delle conoscenze già disponibili sull'argomento

GIARDIA

Giardia è un protozoo flagellato, con una distribuzione cosmopolita, in grado di infettare sia l'uomo che numerose altre specie animali. La specie che causa infezioni nell'uomo è *Giardia duodenalis*. La diagnosi di laboratorio si fonda sulla messa in evidenza dei trofozoiti e/o delle cisti mediante metodi diretti: a) esame a fresco; b) colorazione di Giemsa; c) esame microscopico dopo concentrazione di Ridley; d) tecniche di immunofluorescenza diretta; e) test immunocromatografico; f) enterotest; g) tecniche di biologia molecolare con PCR e microarray.

CRIPTOSPORIDIUM

Il genere *Cryptosporidium* comprende numerose specie in grado di infettare un'ampia varietà di vertebrati, incluso l'uomo. Dal punto di vista clinico, il parassita determina quadri molto diversi a seconda dello stato immunitario dell'ospite. Nei soggetti immunocompetenti, di norma, l'infezione si risolve spontaneamente in 1-2 settimane. Al contrario, l'infezione in pazienti immunodepressi è caratterizzata da diarrea acquosa secretoria con numerose scariche giornaliere ed imponente perdita di liquidi e sali minerali. L'infezione tende a cronicizzare, prolungandosi per mesi e disseminandosi al di fuori dell'intestino, e può essere fatale.

La diagnosi di laboratorio si fonda sulla messa in evidenza delle oocisti caratterizzate da un diametro di 5-6µm, ciascuna contenente 4 sporozoiti, attraverso le seguenti metodiche: a) esame a

fresco; b) colorazione con carbofucsina; c) colorazione di Kinyon; d) esame microscopico dopo concentrazione di Ridley; e) tecniche di immunofluorescenza diretta; f) test immunocromatografico; g) enterotest; h) tecniche di biologia molecolare con PCR e microarray.

WHOLE GENOME SEQUENCING

Il sequenziamento di nuova generazione ha reso possibile lo studio del genoma di molti parassiti, e consentito una migliore comprensione della diversità genetica dei parassiti, della loro evoluzione a livello molecolare e della possibile resistenza ai farmaci, e può contribuire alla conoscenza di ceppi analizzati.

Metodologia

Il progetto ha come fine ultimo l'analisi delle infezioni dovute a specie di *Giardia* e *Cryptosporidium*, con attenzione ai fattori di rischio e alla diffusione della resistenza ai farmaci antiparassitari (*Giardia*). Gli obiettivi che il progetto intende perseguire tramite l'uso di tecniche molecolari, compreso il sequenziamento genomico, sono i seguenti:

- 1) Migliorare le conoscenze sulla diffusione delle parassitosi intestinali nella regione Campania, con miglioramento dei servizi, modalità di raccolta e diffusione dati
- 2) Ottenere dati molecolari, anche a livello dell'intero genoma, utili ad una migliore comprensione della epidemiologia di queste parassitosi
- 3) Valutare i fattori di rischio correlati alle parassitosi oggetto di studio
- 4) Valutare la presenza di ceppi resistenti ai farmaci antiparassitari
- 5) Studiare i meccanismi coinvolti nella resistenza ai farmaci antiparassitari (*Giardia*)

Campionamento

La raccolta dei campioni fecali avverrà presso tre laboratori di riferimento (Azienda Ospedaliera dei Colli- Cotugno, Azienda Ospedaliera Universitaria "Luigi Vanvitelli", Azienda Ospedaliera Universitaria San Giovanni di Dio Ruggi d'Aragona). I campioni saranno analizzati con tecniche altamente sensibili ed accurate per ottenere una robusta diagnosi parassitologica. Per la corretta raccolta dei campioni è utile fornire istruzioni dettagliate ai pazienti e/o ai reparti ed ambulatori di degenza. Il campione deve essere accompagnato dalla richiesta del clinico compilata correttamente in ogni sua parte, che riporti le informazioni anamnestiche, inclusi eventuali viaggi effettuati dal paziente subito prima della comparsa dei sintomi. Si raccomanda di raccogliere i campioni copro-parassitologici in contenitori di plastica sterili con tappo a vite in una quantità pari ad almeno 3 - 5 grammi. Il campione fecale sarà sottoposto ad esame microscopico a fresco, colorazioni di Giemsa e Kinyon, tecniche di immunofluorescenza diretta (IFA), di biologia molecolare (utilizzo di un pannello per l'identificazione molecolare di 26 parassiti) e tecnica di concentrazione di Ridley. I campioni positivi verranno catalogati ed associati ad una scheda anamnestica, includendo questionari estesi ai fattori di rischio per intercettare eventuali focolai in ambito territoriale. Il materiale biologico (quantità cospicua di campione 10-20 gr) sarà conservato a 4°C e trasferito all'Istituto Superiore di Sanità presso cui saranno eseguite le analisi molecolari, incluso il sequenziamento genomico, e la valutazione della resistenza ai farmaci (per *Giardia*).

Analisi molecolari standard

Il DNA verrà estratto direttamente dal campione fecale (circa 200-500 mg) mediante l'uso di un kit specifico (FastDNA kit for Soil) e di uno strumento (FASTPrep 120) che consente un'efficace rottura meccanica della parete cistica, garantendo una buona resa. Gli estratti saranno utilizzati per

una serie di reazioni di Polymerase Chain Reaction (PCR) che consentono l'amplificazione di frammenti specifici per ciascun parassita. La prima serie di esperimenti permetterà di identificare il parassita a livello di specie, attraverso amplificazione e sequenziamento di frammenti dei geni codificanti il 18S ribosomale. A seconda della specie identificata, sarà effettuata una seconda serie di reazioni di PCR per acquisire informazioni più precise riguardante i genotipi parassitari presenti in ciascun campione fecale. Anche in questo caso, sarà necessario sequenziare i prodotti di amplificazione ed effettuare analisi comparative delle sequenze mediante interrogazioni di banche dati (GenBank). Le metodiche necessarie sono già disponibili presso l'ISS.

Whole Genome Sequencing

La metodologia WGS richiede:

- 1) Purificazione delle forme cistiche presenti nel campione fecale
- 2) Estrazione del DNA genomico dalle cisti purificate
- 3) Amplificazione del DNA genomico mediante Whole Genome Amplification
- 4) Preparazione della libreria e sequenziamento mediante Illumina.
- 5) Analisi dei dati mediante opportune tecniche bioinformatiche.

PURIFICAZIONE DELLE FORME CISTICHE

A tal scopo verrà utilizzata la tecnica di immuno- separazione magnetica, che prevede l'impiego di anticorpi monoclonali fisicamente coniugati a biglie magnetiche e diretti contro uno specifico parassita. Una aliquota di campione fecale verrà diluita in un opportuno tampone e messa a contatto con le biglie. Dopo l'incubazione, le biglie, e di conseguenza le cisti/oocisti ad esse legate, verranno catturate mediante l'uso di un magnete. Dopo una fase di lavaggio, le cisti/oocisti verranno distaccate dalle biglie mediante trattamento con acidi, lavate e recuperate. Infine, verrà effettuato un conteggio al microscopio per stimare il numero di cisti/oocisti.

ESTRAZIONE DEL DNA GENOMICO

Il DNA genomico verrà estratto dalle cisti purificate utilizzando il kit "DNA extraction IQ™ System kit". Al fine di ottimizzare l'estrazione, le cisti saranno esposte a cinque cicli di congelamento in azoto liquido seguiti da incubazione a 55°C, per favorire la rottura della parete. La concentrazione dell'estratto verrà misurata utilizzando una metodica fluorimetrica (Qubit dsDNA HS Assay Kit e Qubit 1.0 fluorometer). Il DNA genomico verrà amplificato mediante la tecnica di WGA, che prevede una incubazione a 30°C per 16 ore in presenza di un opportuno tampone e di una polimerasi specifica (phi29). verrà misurato (Qubit) e un'aliquota verrà sottoposta ad elettroforesi su gel di agarosio per stimare il peso molecolare medio. In seguito, una PCR generica per il ribosomale procariotico (16S) verrà condotta per stimare l'eventuale contaminazione batterica del DNA da sottoporre a NGS.

PREPARAZIONE DELLE LIBRERIE PER IL SEQUENZIAMENTO NGS

Un volume contenente 1 microgrammo di DNA verrà spedito ad una Ditta che si occuperà dell'allestimento delle librerie e del sequenziamento mediante tecnologia Illumina, garantendo una produzione di una quantità di dati concordata (3Gb per campione).

ANALISI BIOINFORMATICA E COMPARAZIONE CON BANCHE DATI DISPONIBILI

I dati grezzi ottenuti per WGS saranno dapprima controllati per verificarne la qualità (sia in termini di qualità del sequenziamento che in termini di possibili contaminazioni). Le fasi successive prevederanno la mappatura delle sequenze ottenute da ciascun WGS contro un genoma di riferimento per l'identificazione delle differenze a livello genomico (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs, e Insertion/Deletions, InDels). Dopo la mappatura di ciascun WGS verrà

prodotto un file complessivo contenente tutti gli SNPs e gli InDels di tutti gli isolati. Utilizzando gli SNPs, sarà possibile ricostruire le relazioni tra gli isolati attraverso analisi filogenetiche e di clustering. Una analisi mirata sarà dedicata allo studio della variabilità dei geni, al fine di identificare geni sotto pressione selettiva. Tutte queste analisi prevedono l'inclusione dei genomi già disponibile nelle banche dati pubbliche.

Risultati attesi

Obiettivi Generali:

- Monitoraggio e controllo delle infezioni da parassiti ed in particolare da *Giardia* e *Cryptosporidium* e studio della resistenza ai farmaci antiparassitari nella Regione Campania.

Obiettivi Specifici:

- Raccolta dei campioni fecali e diagnosi microbiologica di parassitosi con particolare attenzione a giardiasi e criptosporidiosi.
- Implementazione di una rete di conoscenza e di formazione specifica del personale delle Regioni coinvolte mediante seminari, corsi di aggiornamento riguardanti le tecniche diagnostiche tradizionali e innovative e percorsi assistenziali.
- Caratterizzazione molecolare dei ceppi di *Giardia* e *Cryptosporidium* isolati dall'uomo nelle Unità coinvolte. Analisi delle sequenze generate nel contesto epidemiologico.
- Sequenziamento di genomi dei protozoi appartenenti alle specie *Giardia* e *Cryptosporidium* isolati dall'uomo nelle Unità coinvolte.
- Analisi dei dati di sequenziamento per studi di epidemiologia genomica e di resistenza ai farmaci antiparassitari (per *Giardia*).
- Divulgare i risultati ottenuti attraverso la pubblicazione di articoli e mediante la partecipazione a congressi nazionali e internazionali

OBIETTIVI DI PROGETTO

OBIETTIVI	Indicatore/i di risultato
OBIETTIVO GENERALE	Monitoraggio e controllo delle infezioni da parassiti con particolare riferimento a <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> nella Regione Campania. Caratterizzazione molecolare dei ceppi parassitari, anche attraverso studi di genomica. Studio della resistenza di <i>Giardia</i> ai farmaci antiparassitari
OBIETTIVO SPECIFICO 1	Raccolta dei campioni fecali e diagnosi microbiologica
OBIETTIVO SPECIFICO 2	Implementazione di una rete di conoscenza e di formazione specifica del personale mediante seminari, corsi di aggiornamento riguardanti le tecniche diagnostiche tradizionali e innovative, e percorsi assistenziali
OBIETTIVO SPECIFICO 3	Identificazione molecolare dei comuni parassiti responsabili di infezione nell'uomo con tecniche tradizionali e PCR in particolare <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> raccolti dalle Unità coinvolte. Analisi delle sequenze nel contesto epidemiologico.

OBIETTIVO SPECIFICO 4	Sequenziamento del genoma di isolati umani di <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> raccolti dalle Unità coinvolte. Analisi dei dati di sequenziamento per epidemiologia genomica. Studio della resistenza ai farmaci antiparassitari (per <i>Giardia</i>)
OBIETTIVO SPECIFICO 5	Divulgare i risultati ottenuti attraverso la pubblicazione di articoli e mediante la partecipazione a congressi nazionali e internazionali

Risorse necessarie alla realizzazione del progetto:

- 1) Una Borsa di studio per 1 Biologo con specifiche competenze nella diagnostica parassitologica
- 2) Copertura finanziaria, della durata di 3 anni, per la realizzazione del progetto.