

ALTERNANZA SCUOLA·LAVORO IN ISS

12-15 e 21-23 marzo 2018



Percorso formativo:

AS10: La vita in una goccia d'acqua , protozoi
microrganismi eucariotici :importanza per ambienti
e salute

Studenti/Liceo:

F. Z. (Liceo Aristofane)
D. V. (Liceo Archimede Pacinotti)
C. V. (Liceo Maria Ausiliatrice)

Tutor/affiliazioni:

Maria Cristina Angelici (ISS)
Paola Ade (ISS)

AS10: La vita in una goccia d'acqua

-Il protozoo è un microrganismo unicellulare eucariotico fornito di flagelli e ciglia che gli permettono il movimento

-Si ritrovano in molti habitat d'acqua dolce e marina e nel suolo umido

-Sono anche parassiti di piante ed animali, compreso l'uomo, per il quale determinano patologie molto gravi

Abbiamo lavorato con il microscopio per conoscerli:

-Analisi di campioni d'acqua della fontana dell'Università La Sapienza

-Immagine acquisita da un microscopio OLYMPUS M081 "Invertito".

-Il Software è il ProgRes CapturePRO 2.8

-Larva di crostaceo coperta da una massa di mucillagine



Euplotes sp. vita libera



Giardia sp. protozoo enterico

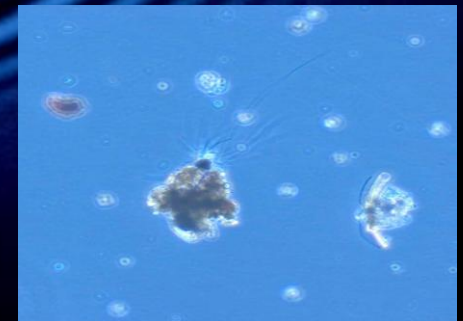


Immagine al microscopio invertito

Diagnosi e caratterizzazione molecolare di un protozoo patogeno

Il primo passo è l'isolamento di una sequenza nucleotidica nel suo DNA genomico, che sia specifica e ben rappresentata

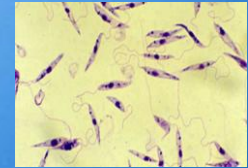
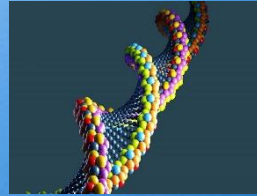
Questo si ottiene tramite l'amplificazione genica con Polymerase Chain Reaction (PCR) e oligonucleotidi che riconoscono la sequenza specifica nel DNA genomico (Primer)

Lo step iniziale è stato quello di estrarre il DNA totale da un campione di protozoi cresciuti *in vitro*- noi abbiamo applicato la tecnica ad un pellet cellulare di *Leishmania* coltivato in ISS

In seguito abbiamo applicato la tecnica di PCR ad un campione biologico ignoto Nel quale dovevamo ricercare il protozoo enterico *Cryptosporidium* sp. come possibile agente della patologia osservata .

Per il sistema genico utilizzato abbiamo svolto una nested-PCR secondo il seguente protocollo.

- UPrimer 1 e 2 per la prima amplificazione omologhi alla sequenza
- so della Master Mix 2x
- Acqua
- DNA stampo
- 1° Polimerizzazione
- Ripetere il procedimento per la 2° PCR con Primer 3 e 4 e utilizzare come DNA stampo un'aliquota del PCR precedente.



Leishmania sp.



311 bp →

Foto del gel di elettroforesi dell'amplicon ottenuto

Diagnosi e caratterizzazione molecolare di un protozoo patogeno

• RISULTATI:

E' stata ottenuto un amplicon del peso molecolare giusto e per questo abbiamo fornito all'ISS la diagnosi di presenza di *Cryptosporidium* sp. nel campione biologico esaminato

Il secondo e ultimo step della caratterizzazione molecolare prevede di estrarre la banda di agarosio dal gel

- ✓ Purificarla con un Kit specifico
- ✓ inviarla a sequenziamento
- ✓ La sequenza ottenuta può dare la vera caratterizzazione dell'agente patologico individuato

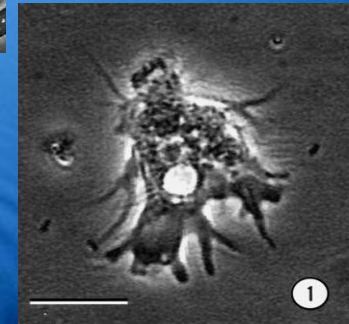
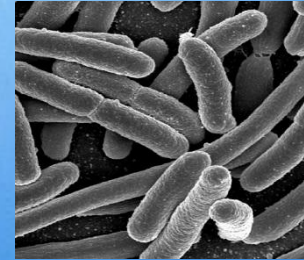
Il tempo previsto per il nostro percorso di ASL non ha consentito di completare la caratterizzazione.

AS10: La vita in una goccia d'acqua

Prevenzione e salvaguardia dell'uomo dai microbi trasmessi dall'acqua

Per preservare la nostra salute dobbiamo

- Controllo sul campo (campionamento + monitoraggio)
- Utilizzo degli indicatori (*E. coli* e di enterococchi)
- Ricerca attiva dei protozoi e virus patogeni per i quali non esistono indicatori
- Indagine epidemiologica nella popolazione per capire la «dimensione del problema di salute»
- Studiare la biodiversità dei microbi nelle acque (epidemiologia molecolare)

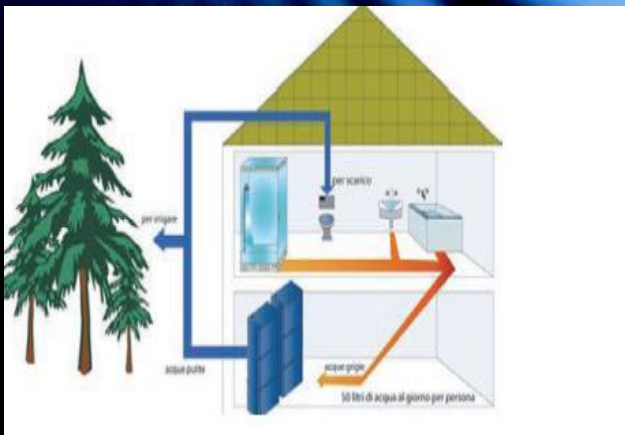


Per limitare il consumo di acqua:

- Riutilizzo delle acque grigie
- Prendere accorgimenti nell'uso quotidiano dell'acqua

Per contenere il problema di salute:

- Monitoraggi ambientali
- Limitazioni degli abusi antropici (scarichi, uso del territorio, ecc)/igienizzazione





Grazie per l'ascolto e buona giornata