



UNIVERSITÀ DI PISA

Direzione del Personale e degli Affari Generali
Dirigente: Dott. Ascenzo Farenti
Coordinatore: Dott. Luca Busico

Unità Interdirezionale Gestione delle Cococo
Responsabile Dott.ssa Samanta Landucci

Prot. n. 18273 del 5/6/2014

Pubblicato il: 6/6/2014

Scadenza: 13/06/2014

AVVISO DI PROCEDURA PER IL CONFERIMENTO DI UN INCARICO PER COLLABORAZIONE COORDINATA E CONTINUATIVA PRESSO IL DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

IL DIRETTORE GENERALE

- VISTO:** lo Statuto dell'Università di Pisa, emanato con D.R. 27 Febbraio 2012, n. 2711;
- VISTO:** il Regolamento di Ateneo per l'Amministrazione la finanza e la contabilità, emanato con D.R. 8 ottobre 2008, n. 13745 e successive modifiche e integrazioni;
- VISTO:** l'art 2222 del cc relativo alla disciplina del lavoro autonomo;
- VISTO:** l'art 7, comma 6 del D.Lgs. n. 165/01;
- VISTO:** l'art. 17, comma 30, del D.L. n. 78/09 convertito in Legge n. 102/09;
- VISTO:** il Regolamento di Ateneo per il conferimento di incarichi di lavoro autonomo a soggetti esterni non dipendenti dell'Università di Pisa emanato con D.R. 29 maggio 2009, n 7967;
- VISTO:** il progetto denominato "Supporto all'attività di allestimento di ceppi di Candida parapsilosis privi di adeine", il cui abstract è allegato al presente avviso (responsabile Prof.ssa Arianna Tavanti);
- VISTA:** la delibera n. 1406 del 12/05/2014 del Consiglio del Dipartimento di Biologia con la quale viene autorizzata l'emanazione dell'interpello interno e, nel caso di esito negativo dello stesso, l'attivazione della procedura comparativa per l'attribuzione di un incarico di collaborazione nell'ambito del progetto sopra indicato;
- VISTO:** l'interpello interno n. 265/2014 del 15/05/2014 per reperire una unità di personale da inserire nel DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA al quale non ha risposto alcun dipendente dell'Ateneo;
- DATO ATTO** che: detta struttura ravvisa la necessità di attivare un contratto di collaborazione coordinata e continuativa per l'attività di cui sopra;
- DATO ATTO** che detta richiesta è conforme a quanto disciplinato dal regolamento per il conferimento di incarichi di lavoro autonomo a soggetti esterni non dipendenti dell'Università di Pisa;
- DATO ATTO** altresì che quanto disposto con il presente provvedimento non riguarda il merito dell'attivazione del contratto che rientra nella responsabilità propria del Responsabile della Struttura proponente, il quale è tenuto al rispetto delle disposizioni impartite dalla Direzione generale, in ossequio alle disposizioni di legge e a quelle regolamentari di ateneo;
- CONSIDERATO** che la spesa derivante dall'attivazione del contratto di collaborazione coordinata e continuativa troverà copertura finanziaria sui fondi del suddetto progetto derivanti da attività conto terzi, FIRB Codice RBF100FLV, CUP I51J11000270001 del bilancio previsionale di Ateneo per l'anno 2014, (così come risulta dalla delibera sopra citata);
- RAVVISATA PERTANTO** la necessità di dar corso alla procedura finalizzata all'attivazione di un contratto di collaborazione coordinata e continuativa per l'attività di cui sopra;

RENDE NOTO

Articolo 1 - Oggetto del bando

Presso il DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA è disponibile un incarico, finalizzato alla realizzazione del progetto allegato, che avrà ad oggetto il supporto alla ricerca nell'esecuzione di attività di allestimento di ceppi di Candida parapsilosis privi di adesine; in particolare la preparazione di

cassette di delezione per le adesine CPAR_404780 e CPAR2_404770, creazione di ceppi KO e caratterizzazione dei ceppi mutanti mediante saggi di adesione di lieviti a cellule umane.

Il collaboratore che risulterà idoneo avrà un incarico di 5 mesi per un compenso lordo prestatore di euro 8288,39.

La prestazione sarà svolta presso la sede del DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA senza vincolo di subordinazione; il collaboratore è obbligato al conseguimento del risultato oggetto del contratto.

Articolo 2 – Requisiti essenziali per l'ammissione

Costituiscono requisiti essenziali per la partecipazione alla procedura:

- Laurea in scienze biologiche (v.o.) o laurea magistrale in discipline della classe LM-6;
- Dottorato di ricerca in scienze biologiche molecolari, microbiologia o discipline affini;
- esperienza scientifico professionale pregressa attinente all'incarico richiesto.

Il mancato possesso dei requisiti ovvero la mancata dichiarazione degli stessi comporterà l'esclusione del candidato dalla selezione.

Articolo 3 – Domanda di partecipazione e relativi allegati

La domanda di partecipazione dovrà essere redatta secondo lo schema allegato al presente avviso (mod.1), alla quale dovranno essere allegati :

- Curriculum vitae che dovrà contenere, oltre all'indicazione dei percorsi formativi, l'elenco delle attività ed esperienze professionali svolte, il ruolo ricoperto, la denominazione dell'ente/azienda in cui lavora o ha lavorato, l'esatto periodo di svolgimento delle attività (giorno di inizio e giorno di fine di ogni rapporto);
- Copia fotostatica di un documento di identità e del codice fiscale;
- Dichiarazione sostitutiva (mod 2) dalla quale dovrà risultare il possesso dei requisiti richiesti al precedente articolo 2.

Le dichiarazioni sopra indicate , dovranno essere redatte in modo analitico e contenere tutti gli elementi che le rendano utilizzabili ai fini della procedura comparativa, affinché la Commissione giudicatrice possa utilmente valutare i titoli ai quali si riferiscono.

Articolo 4 – Modalità e termini di presentazione

Le domande di partecipazione alla selezione dovranno essere inviate entro il **13/06/2014**, pena esclusione dalla procedura, con una delle seguenti modalità:

- tramite raccomandata a/r indirizzata all'Università di Pisa, Direzione del Personale, Lungarno Pacinotti 43, 56126 Pisa;
- direttamente all'Ufficio Protocollo dell'Università di Pisa durante l'orario di apertura al pubblico (dal lunedì al venerdì: dalle ore 9,00 alle ore 13,00; martedì e giovedì: dalle ore 15,00 alle ore 17,00).
- tramite Posta Elettronica Certificata (PEC) all'indirizzo protocollo@pec.unipi.it .

La data di invio delle domande è stabilita dal timbro postale (in caso di raccomandata), o dalla data del Protocollo generale di entrata dell'Università di Pisa o, nel caso di PEC, dalla data di invio; saranno escluse le domande pervenute successivamente a tale data.

Articolo 5 – Valutazione comparativa

La scelta dei soggetti da incaricare tra coloro che abbiano presentato la candidatura nei termini sarà operata da una commissione composta dal Responsabile della struttura richiedente (o un suo delegato), con funzioni di Presidente, il quale potrà farsi coadiuvare al massimo da due docenti competenti nella materia oggetto del bando; la Commissione sarà supportata da un funzionario appartenente alla Direzione del personale.

La commissione nella comparazione dei *curricula* si atterrà ai seguenti criteri: valutazione dei requisiti indicati al precedente articolo 2 con particolare riferimento al titolo di studio e alle esperienze pregresse nel settore di ricerca oggetto dell'incarico..

L'esame comparativo può essere integrato, qualora ritenuto necessario, da eventuale colloquio conoscitivo (l'eventuale convocazione avverrà tempestivamente per telefono o email).

La commissione provvederà a redigere apposito verbale da cui risulterà il soggetto idoneo.

L'esito della procedura comparativa sarà pubblicato sul sito web dell'ateneo (<http://www.unipi.it/ateneo/bandi/cococo/index.htm>).

Articolo 6 - Conferimento incarico

Sulla base del verbale redatto dalla commissione di cui all'art. 5, il Responsabile della Struttura, dopo aver accertato che non sussistono cause di incompatibilità, provvederà al conferimento dell'incarico al soggetto ritenuto comparativamente più idoneo e alla successiva stipula del contratto. Nel caso in cui risulti vincitore un dipendente della Pubblica Amministrazione la sottoscrizione del contratto è subordinata alla presentazione della nulla osta da parte dell'Amministrazione di appartenenza.

L'efficacia e l'esecuzione del contratto sono condizionate all'esito positivo del procedimento di controllo preventivo di legittimità da parte della Corte dei Conti (apposizione visto o silenzio assenso).

Articolo 7 – Diritti e doveri

Le prestazioni richieste dal presente avviso verranno svolte dal collaboratore in piena autonomia, senza vincolo di subordinazione, né vincoli di orario, nel quadro comunque di un rapporto unitario, coordinato e continuativo, presso il DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA.

Il prestatore è obbligato al conseguimento dei risultati oggetto del contratto e risponderà di eventuali errori o negligenze connesse alla propria attività. Il regolare svolgimento della prestazione sarà verificato dal Prof.ssa Arianna Tavanti, in qualità di Responsabile del progetto di ricerca.

L'Università si impegna a fornire adeguate strutture di accoglienza e supporto alle attività del titolare del contratto presso il suddetto Dipartimento.

La copertura assicurativa contro gli infortuni e per la responsabilità civile verso terzi è assicurata dall'Ateneo.

Articolo 8 – Responsabile del procedimento

Ai sensi di quanto disposto dall'art. 5 della Legge 7 agosto 1990, n. 241, il Responsabile del procedimento di cui al presente avviso è la Dott.ssa Samanta Landucci, Direzione del Personale, Lungarno Pacinotti, 44, 56126 Pisa.

Articolo 9 – Pubblicità procedura

Il presente avviso sarà pubblicato sul sito web dell'Ateneo (<http://www.unipi.it/ateneo/bandi/cococo/index.htm>).

Articolo 10 – Trattamento dati personali

Ai sensi del D.Lgs. n. 196/2003, i dati forniti dai candidati saranno trattati per le finalità di gestione della presente procedura comparativa e, nel caso di conferimento dell'incarico, per le finalità inerenti la gestione del rapporto.

Il Direttore Generale
f.to Dott. Riccardo Grasso

Abstract

4 - Abstract del Progetto di Ricerca

Italiano

L'incidenza di micosi opportunistiche ha subito un drammatico incremento negli ultimi 20 anni, con elevata frequenza di fungemie a rapida evoluzione soprattutto negli individui immunocompromessi. La maggior parte delle infezioni invasive è causata da patogeni appartenenti al genere *Candida*, con *C. albicans* la specie più frequentemente isolata da infezioni sistemiche. Recentemente, tuttavia, è stato registrato un deciso aumento dell'incidenza di candidemie dovute a specie di *Candida* non-*albicans*: tra queste, *C. parapsilosis* è emersa come uno dei più importanti patogeni opportunisti, attestandosi come la seconda o terza causa più comune di candidosi sistemica. Ciò nonostante, *C. parapsilosis* è, tra le specie emergenti, quella meno studiata: basti pensare che solo recentemente varianti intraspecifiche di *C. parapsilosis* sono state elevate al rango di specie e denominate *Candida metapsilosis* e *Candida orthopsilosis*. Indagini molecolari retrospettive hanno indicato che queste specie sono responsabili di infezione nell'uomo in circa l'1-10% delle infezioni erroneamente attribuite a *C. parapsilosis*. Le tre specie restano ancora oggi non discriminabili mediante i test routinariamente utilizzati nella diagnostica micologica, basati sulla caratterizzazione biochimico-metabolica. Pertanto, in seguito alla riorganizzazione del gruppo, le tecniche utilizzabili per la discriminazione delle tre specie sono basate su analisi del DNA ed includono profili di restrizione del gene *SADH*, digerito con l'enzima *BanI* o *NlaIII*, sequenziamento delle regioni ITS, pirosequenziamento di corte sequenze conservate; amplified fragment length polymorphism (AFLP) o sistemi basati su tecnologia microarray. Inoltre, non è ancora ben definito il repertorio di virulenza espresso dalle specie di recente definizione durante l'instaurarsi e la progressione dell'infezione, sebbene alcune indagini comparative indichino differenze nel potenziale patogenetico attribuibile alle specie del complesso "psilosis". L'insorgenza e lo sviluppo di un'infezione micotica è infatti un processo multi-fattoriale: una pletera di elementi contribuiscono alla sua progressione, tra cui fattori di virulenza espressi dal lievito (di particolare rilievo per queste specie adesività, organizzazione cellulare in biofilm, produzione di enzimi idrolitici), reattività immunitaria dell'ospite, sviluppo di fenotipi farmaco resistenti e loro reciproca interazione.

Appare, pertanto, motivato il vivo interesse a studiare la rilevanza clinica di *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis*, comparativamente alla più nota *C. parapsilosis*. In tale ottica, gli obiettivi principali che il Progetto di Ricerca si prefigge di raggiungere, con il contributo di 2 UR, dislocate in 2 Sedi Universitarie Italiane, sono di seguito riassunti.

- 1) Convalidare il nuovo approccio diagnostico per la rapida identificazione e la tipizzazione intraspecifica delle specie *C. metapsilosis* e *C. orthopsilosis*, mediante spettrometria di massa matrix assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF).
- 2) Studiare, attraverso RT-PCR quantitativa, la modulazione dell'espressione di TLRs, peptidi antimicrobici e citochine da parte di linee cellulari endoteliali umane (HUVEC) in risposta all'infezione con *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis* utilizzando modelli di colture cellulari tridimensionali. In base ai dati ottenuti dagli studi in vitro sarà possibile individuare marker diagnostici utili nella diagnosi precoce delle infezioni nosocomiali causate dal complesso psilosis.
- 3) Studiare le proprietà adesive del complesso psilosis, in grado di influenzare la colonizzazione e la permanenza del microrganismo nell'ospite, mediante modelli in vitro di adesione a cellule buccali epiteliali umane (HBEC).
- 4) Identificare geni codificanti molecole di adesione nelle specie del complesso psilosis: l'analisi in silico del genoma di *C. parapsilosis* ha indicato la presenza di 5 potenziali sequenze omologhe ai geni ALS di *C. albicans*. Queste sequenze verranno utilizzate per ricercare la presenza di geni simili anche in *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis*.
- 5) Allestire ceppi mutanti, attraverso la delezione, in *C. parapsilosis*, di putativi geni ALS-like e valutare l'effetto di tale mutazione in vitro ed in vivo. In particolare, la virulenza e patogenicità dei mutanti deficienti nelle capacità adesive verranno valutate durante l'infezione urinaria mediante allestimento di un modello in vivo-in vitro di sopravvivenza all'interno di macrofagi murini.
- 6) Caratterizzare la ridotta suscettibilità alla classe delle echinocandine descritta per le specie del gruppo psilosis, attraverso sequenziamento del gene *FKS1* in ceppi di *C. ortho-meta* e *parapsilosis* di isolamento clinico con ridotta suscettibilità. Verranno inoltre effettuati studi di espressione genica (real time RTPCR) in presenza/assenza di concentrazioni sub inibenti di caspofungina, allo scopo di valutare se una sovra-espressione del gene *FKS1* possa contribuire al fenotipo di resistenza/ridotta suscettibilità.

Inglese

The incidence of opportunistic fungal infections has significantly increased over the past twenty years, with a high frequency of rapidly evolving disseminated infection, especially in immunocompromised patients. The most important cause of systemic mycoses worldwide remains to be Candida spp., with C. albicans being the most common species causing invasive candidiasis. However, a marked increase in non albicans candidemia has recently been observed. Among non albicans species isolated from candidemia, C. parapsilosis has emerged as an important nosocomial pathogen and is actually the second/third most common yeast isolated from blood. Despite the clinical relevance, this species is the less studied among emerging opportunistic fungi, as demonstrated by recent molecular phylogeny studies that have reclassified C. parapsilosis intraspecific variants as separate species, Candida metapsilosis and Candida orthopsilosis. Indeed, recent retrospective studies indicate that these new species each represents 1-10% of the infection/colonization cases erroneously attributed to C. parapsilosis. The species of the psilosis complex are still indistinguishable with conventional biochemical tests and their

identification is currently performed with the aid of DNA-based techniques, such as restriction profiles of SADH gene fragment with *BanI* or *NlaIII* enzymes, ITS, sequencing, pyrosequencing of a short stretch of conserved sequences, amplified fragment length polymorphism (AFLP), microarray-based systems. Little is known on the virulence properties of these fungi and on their role in the establishment/progression of the infection, as *C. parapsilosis* is the better characterized, even though comparative studies show differences in the pathogenicity of the psilosis complex. Pathogenetic mechanisms contributing to the development of symptomatic mycoses by these species are only partially characterized. It is known, however, that a plethora of events regulates the course of opportunistic mycoses, among which several virulence factors produced by these yeasts (particularly relevant for *C. parapsilosis*, adhesion, hydrolytic enzyme and biofilm production), the host immunoreactivity, the development of drug resistance phenotypes and their reciprocal interaction.

The growing interest in investigating the clinical relevance of the opportunistic pathogens *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* appears justified, in comparison with the more extensively studied *C. parapsilosis*.

The specific tasks that will be undertaken by the Research Project, with the contribution of 2 Research Units (RU) located in 2 Italian Universities, are summarized as follows:

1. To validate the novel approach based on matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF) for a rapid identification of *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* and *C. orthopsilosis*, and their intraspecific typing.
2. To analyze by real-time RT-PCR the expression of TLRs, antimicrobial peptides and pro-inflammatory cytokines during the interaction between *C. parapsilosis* complex and human vascular endothelial cells lines (HUVEC), using 3D cell culture models. On the basis of the results obtained from the *in vitro* studies, diagnostic markers for early detection of *C. psilosis* complex infections could be identified.
3. To investigate the adhesive properties of the "psilosis" complex, which may influence colonization and successful permanence within the host, through an *in vitro* model of adhesion to human buccal epithelial cells (HBECs).
4. To identify genes encoding for adhesion molecules in the species belonging to the "psilosis" group. *In silico* analysis of the recently available genome sequence of *C. parapsilosis* indicated the existence of 5 potential homologues of ALS genes. These sequences will be used to investigate the presence of similar genes in *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis*.
5. To create knock out strains in *C. parapsilosis*, by deleting putative ALS like genes. The effect of the deletion will be evaluated *in vitro* and *in vivo*. In particular, virulence and pathogenicity of *C. parapsilosis* adhesion defective mutants will be evaluated by using an *in vivo-in vitro* urinary tract infection model of survival within murine macrophages.
6. To better characterize the reduced susceptibility of these species against echinocandins. Clinical isolates with reduced susceptibility/resistance to echinocandins will be selected and used for *FKS1* sequencing. *FKS1* gene expression analysis (real time RT-PCR) will also be carried out in the presence/absence of sub-inhibitory concentrations of caspofungin, to evaluate whether over expression of the gene contributes to the resistant/less susceptible phenotype.

All'Università di Pisa
Direzione del Personale e degli Affari Generali
Unità Interdirezionale Gestione delle cococo
Lungarno Pacinotti n. 43
56126 Pisa

Il/La sottoscritt.....

Codice Fiscale

Recapito Telefonico, e-mail

chiede

di partecipare alla procedura prot n..... del.....finalizzata al conferimento di un incarico, presso il DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA, avente come oggetto: supporto alla ricerca nell'esecuzione di attività di allestimento di ceppi di Candida parapsilosis privi di adesine; in particolare la preparazione di cassette di delezione per le adesine CPAR_404780 e CPAR2_404770, creazione di ceppi KO e caratterizzazione dei ceppi mutanti mediante saggi di adesione di lieviti a cellule umane.

A tal fine dichiara sotto la propria responsabilità, ai sensi dell'art. 46 del DPR 28/12/2000, n. 445:

- di essere nato a _____ il _____;

- di essere residente a _____ (prov. _____)

CAP _____, via _____

- di essere cittadino/a _____ *

*In caso di cittadino/a extracomunitario:

dichiara di essere in possesso dei documenti comprovanti il regolare soggiorno in Italia.

Dichiara di esser consapevole che la presente non costituisce istanza volta a partecipare ad una selezione nell'ambito di una procedura di concorso pubblico e che **non è in alcun modo configurabile il diritto a stipulare un contratto di collaborazione con l'Università.**

Autorizza il trattamento dei dati personali ai sensi della D.Lgs 196/2003.

Il sottoscritto allega:

- Curriculum vitae redatto in italiano, datato e sottoscritto, contenente, oltre all'indicazione dei percorsi formativi, l'elencazione delle attività ed esperienze professionali svolte, il ruolo ricoperto, la denominazione dell'ente/azienda in cui lavora o ha lavorato, l'esatto periodo di svolgimento delle attività (giorno di inizio e giorno di fine di ogni rapporto);
- Copia fotostatica di un documento di identità e di codice fiscale;
- Dichiarazione sostitutiva di certificazione / atto notorio (Mod. 2).

Data.....

.....
(firma)

**DICHIARAZIONE SOSTITUTIVA DI CERTIFICAZIONE
(art.46 del D.P.R. 445/2000)
DICHIARAZIONI SOSTITUTIVE DI ATTO DI NOTORIETÀ
(art.47 del D.P.R. 445/2000)**

COGNOME _____

NOME _____

LUOGO E DATA DI NASCITA _____

CODICE FISCALE _____

PASSAPORTO (Solo per gli stranieri) _____

sotto la propria responsabilità, consapevole che la falsità in atti e le dichiarazioni mendaci indicate nell'art.76 del D.P.R. 445/2000 sono punite ai sensi del codice penale e delle leggi speciali in materia,

DICHIARA

➤ di essere in possesso di:

diploma di laurea ai sensi del vecchio ordinamento in _____
_____ conseguito in data _____ presso
l'Università di _____ con voto _____;

laurea specialistica ex D.M. 509/99 e successive modificazioni ed integrazioni in _____
_____ conseguita
in data _____ presso l'Università di _____
con voto _____;

laurea magistrale ex D.M. 270/04 in _____
_____ conseguita in data _____ presso l'Università di _____
_____ con voto _____;

titolo di studio estero _____ conseguito in
data _____ presso l'Università di _____
_____ con voto _____;

➤ di essere in possesso dell'esperienza richiesta per l'accesso alla procedura (art. 2 del bando) come di seguito specificato (indicare il datore di lavoro, i periodi e l'attività svolta)

che tutti i titoli, i certificati e le pubblicazioni allegati sono conformi all'originale;

di essere in possesso di ulteriori titoli e attestati di seguito indicati:

Il sottoscritto, ai sensi dell'art. 13 del D. Lgs. n. 196/2003, dà il consenso al trattamento dei propri dati per l'esecuzione di tutte le operazioni connesse all'espletamento del concorso, all'eventuale stipula del contratto e a fini statistici.

Data.....

.....
(firma)