



IZSAM G. CAPORALE
TERAMO



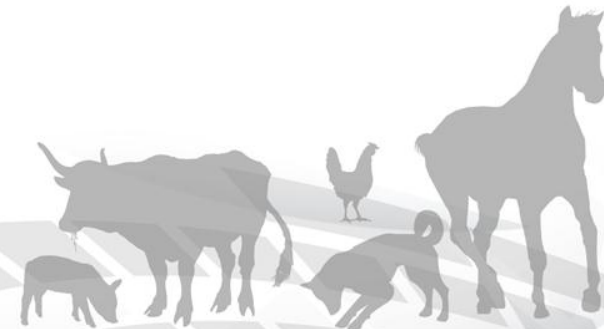
Campylobacter

Laboratorio Nazionale di Riferimento

Prospettive future: individuazione di un sistema diagnostico da utilizzare in campo e strategie di contenimento dell'infezione

G. Garofolo

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale'
Teramo, 12 dicembre 2013
Centro Internazionale per la Formazione e l'Informazione Veterinaria "Francesco Gramenzi»



Campylobacteriosi nei broiler

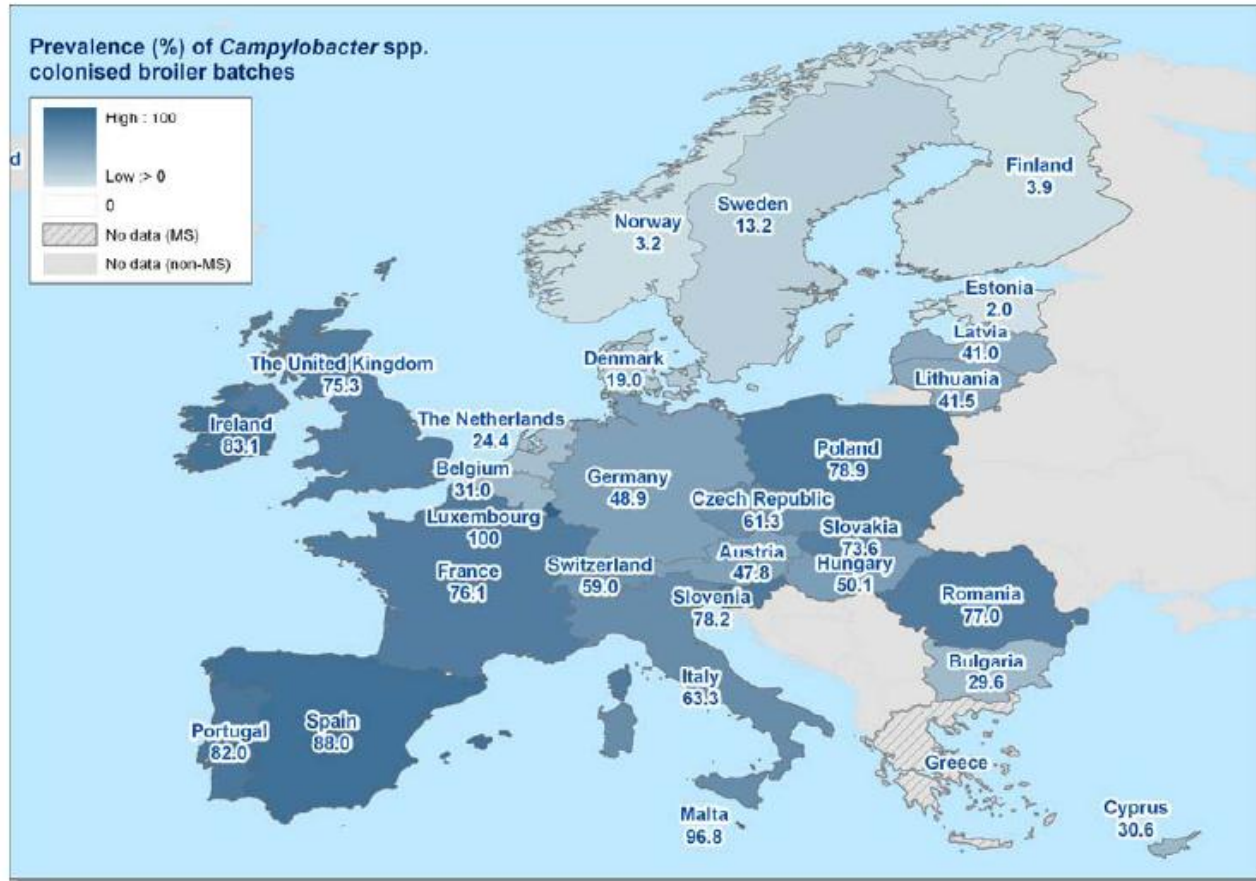
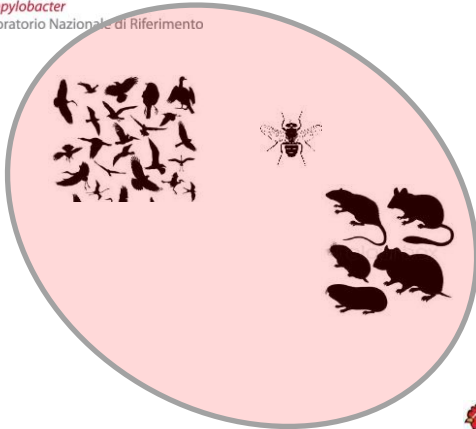


Figure 2: Prevalence of *Campylobacter*-colonized broiler batches in the EU, 2008 (EFSA, 2010a)

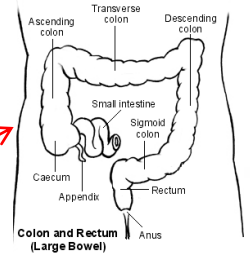
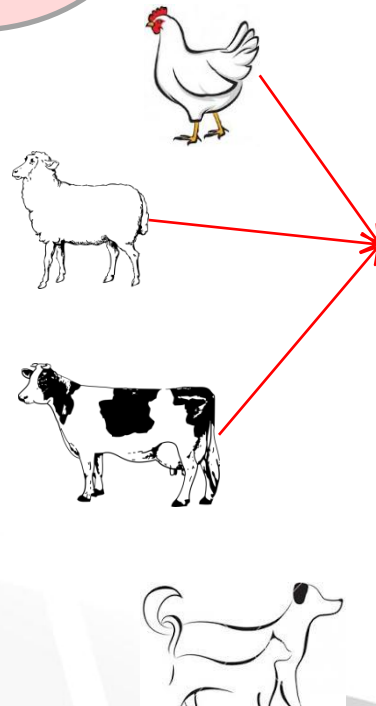


Campylobacter

 *Campylobacter*
Laboratorio Nazionale di Riferimento



Hola. Sono *C. jejuni*.
Sono un Gram negativo
Mi puoi trovare in un sacco di
animali domestici.
Ma sono parte della normale flora
batterica del pollame e dei bovini.
Infetto l'uomo tramite l'acqua e
carne poco cotta, soprattutto di
pollo.
Principalmente causo tossinfezioni
alimentari, con diarrea
autolimitante, crampi addominali e
febbre



Epidemiologia Campylobacter

In Scozia

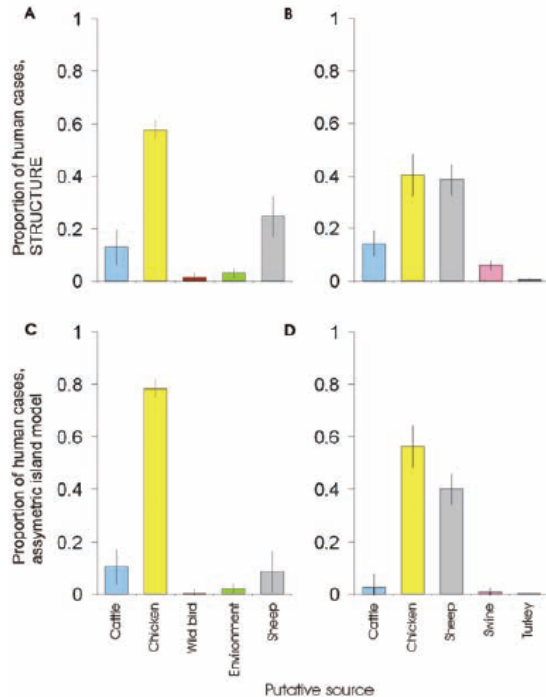


Figure 3. The origin of human campylobacteriosis in Scotland (2005–2006). Probabilistic assignment of the source of human infection with *Campylobacter jejuni* (A and C) and *Campylobacter coli* (B and D) was determined using STRUCTURE and asymmetric island attribution models. Sequence types of disease-causing *C. jejuni* and *C. coli* were compared with data sets with isolates from cattle, chicken, and sheep. In addition, *C. jejuni* was compared with wild bird and environmental data sets and *C. coli* was compared with swine and turkey data sets. In each diagram, 5 equal-sized columns would be expected in the absence of any genetic differentiation by host species.

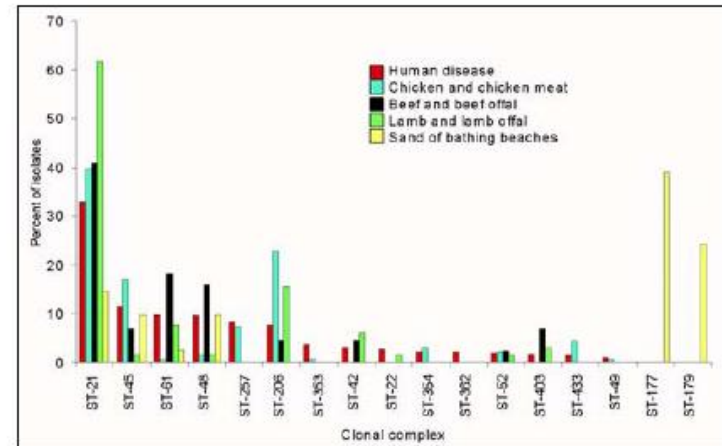


Figure. Frequency distribution of *Campylobacter jejuni* clonal complexes isolated from different sources.

Campylobacter Genotyping to Determine the Source of Human Infection

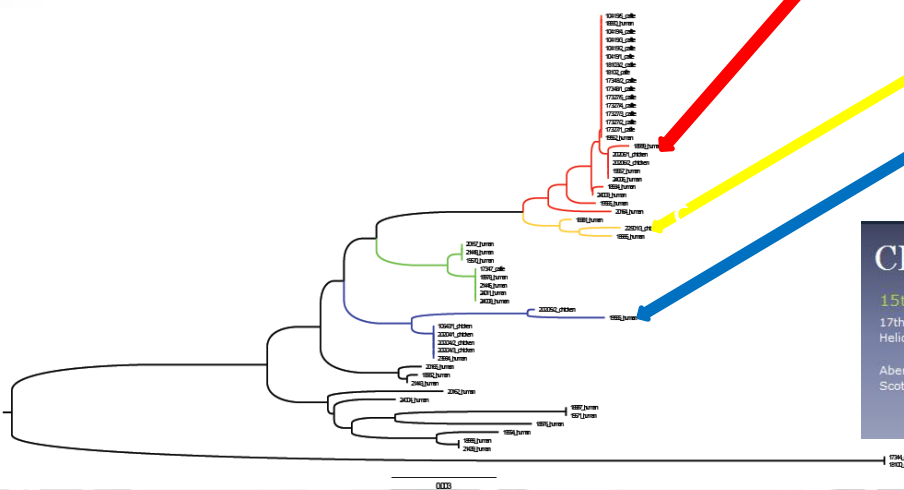
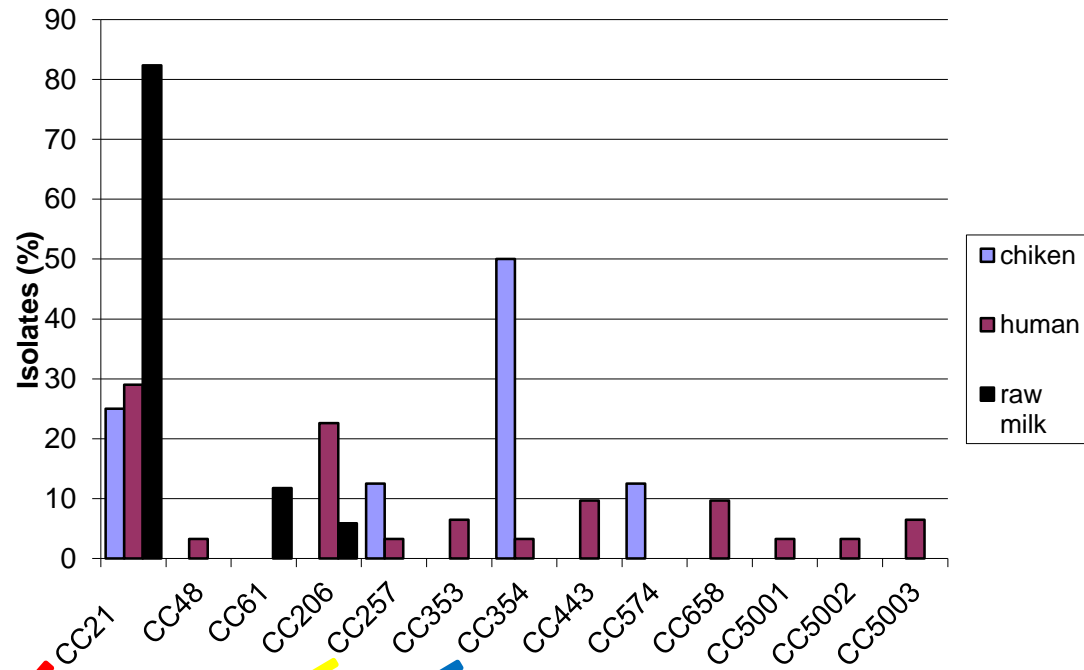
Samuel K. Sheppard,¹ John F. Dallas,² Norval J. C. Strachan,² Marian MacRae,² Noel D. McCarthy,¹ Daniel J. Wilson,⁴ Fraser J. Gormley,² Daniel Falush,⁵ Iain D. Ogden,² Martin C. J. Maiden,³ and Ken J. Forbes²

¹Department of Zoology, University of Oxford, Oxford, ²Department of Medical Microbiology and ³School of Biological Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen, United Kingdom; ⁴Department of Human Genetics, University of Chicago, Chicago, Illinois; and ⁵Department of Microbiology, University College Cork, National University of Ireland, Cork, Republic of Ireland



Epidemiologia Campylobacter

Italia:
31 casi umani



CHRO 2013
15th - 19th September 2013
17th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms
Aberdeen Exhibition and Conference Centre, Scotland, UK

CAMPYLOBACTER, HELICOBACTER AND RELATED ORGANISMS (CHRO)
SUNDAY 15 - THURSDAY 19 SEPT 2013



9 milioni di casi in EU
Un costo di 2.4 miliardi di euro

1. La trasmissione verticale di *Campylobacter* è rara e non sembra determinate nella trasmissione nei broiler.
2. Biosicurezza
3. Strategia efficace di controllo del *Campylobacter* è sulla produzione primaria

Analisi del rischio

Riduzione di 3 log nel contenuto cecale di *Campylobacter* dovrebbe ridurre del 90% il rischio di campylobacteriosi
Riduzione di 2 log sulle carcasse riduzione del 90% rischio di campylobacteriosi



Misure preventive sulla produzione primaria



Utilizzo di prebiotici e probiotici



Fagoterapia

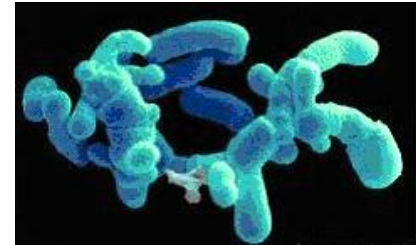
Utilizzo di olii essenziali

Sistema di sorveglianza per identificare lo stato sanitario degli animali prima della macellazione

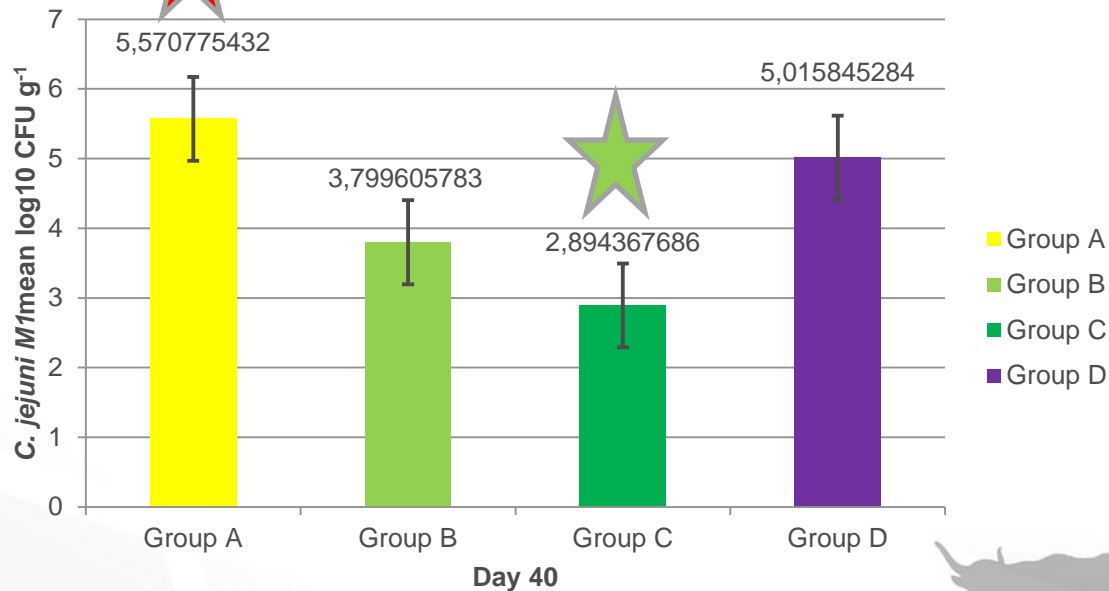


1 Prebiotici e probiotici

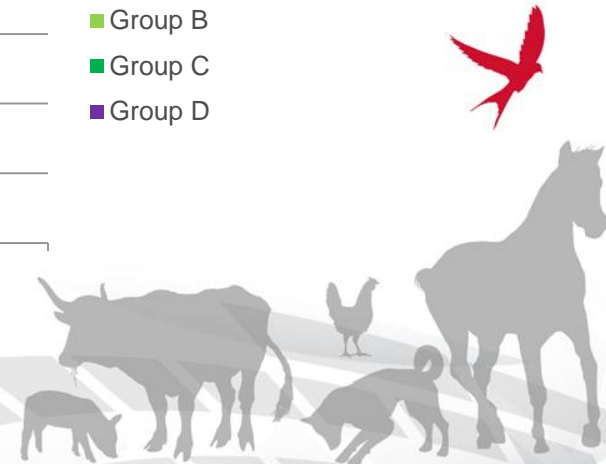
B. longum subsp. *longum* PCB133
xylo – oligosaccaride



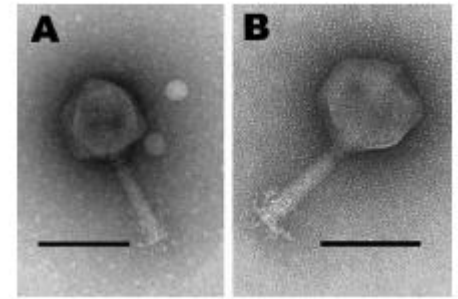
EMIDA



- Group A
- Group B
- Group C
- Group D



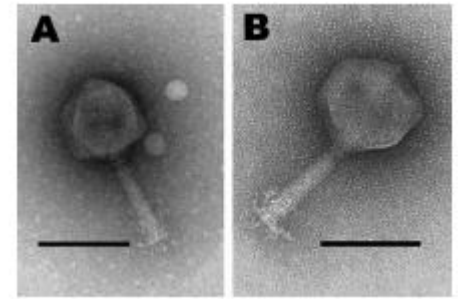
2 Fagoterapia



- a) Batteriofagi (virus) sono predatori dei Batteri
- b) Ubiquitari
- c) Sono specie specifici
- d) Letame, scoli mattatoio, broiler
- e) Decontaminare la carne di pollo in condizioni sperimentali



2 Fagoterapia




- a) Isolare e caratterizzare i batteriofagi
- b) Provare schema di fagoterapia
- c) Verificare la capacità di ridurre *Campylobacter* nel pollame

1log-2log-3log ????

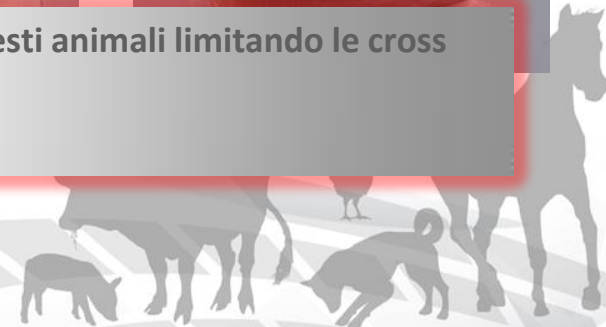


3 - Sistema di sorveglianza per identificare lo stato sanitario degli animali prima della macellazione

- 
- a) Considerando che il rilevamento di Campylobacter nel pollame si basa tradizionalmente su metodi microbiologici
 - b) Il nostro progetto vuole quindi sviluppare e testare un sistema di sorveglianza basato su campionamento ambientale
 1. (tamponi ambientali tipo boot-system) associato a un sistema di identificazione molecolare
 2. (LAMP)
 3. PCR, Real Time PCR



Questa informazione permetterebbe di gestire correttamente al macello questi animali limitando le cross contaminazioni e applicando sistemi di decontaminazione più efficaci.

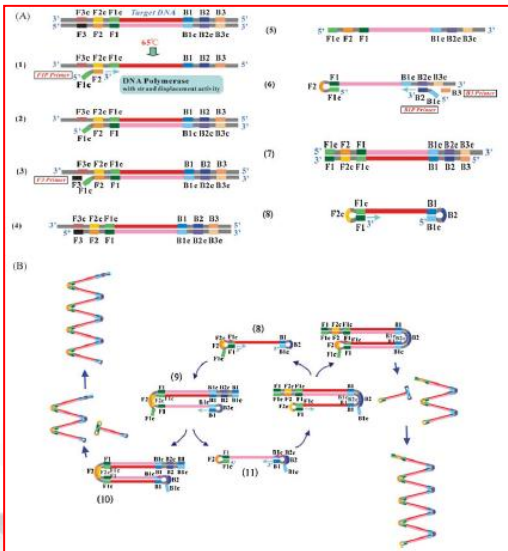
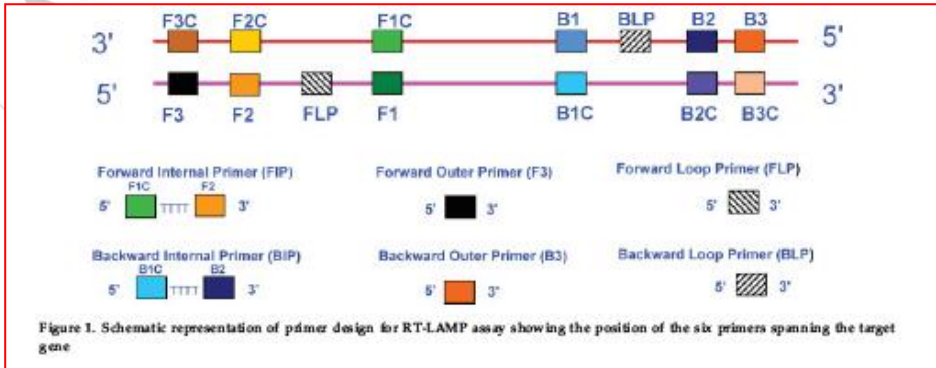


LAMP

- a)* L' *amplificazione* isotermica mediata da loop (LAMP) è una tecnica innovativa di amplificazione genica che si sta affermando come semplice strumento diagnostico.
- b)* L'intera procedura è molto semplice e rapida ed in genere richiede meno di 1h.



LAMP

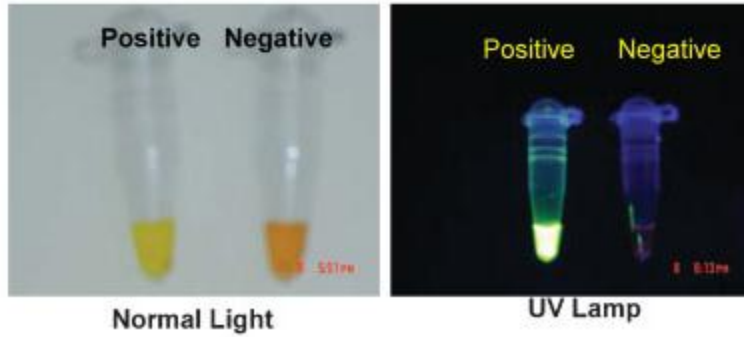


Vantaggi
 Reazione Isotermica 65°
 Meno sensibile ai fattori inibenti
 Esempi:
 TBC
 Malaria
 Tripanomasiosi africana (malattia del sonno)

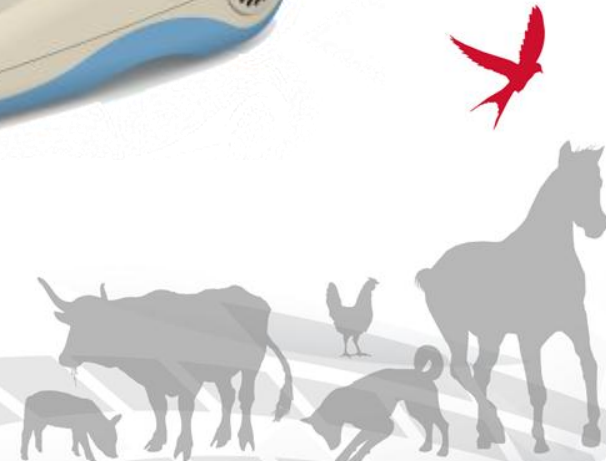
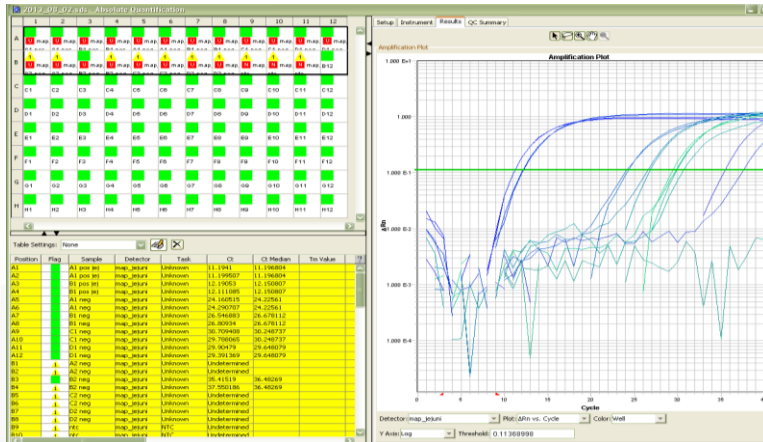
LAMP

 **Campylobacter**
Laboratorio Nazionale di Riferimento

D. Visual Fluorescence



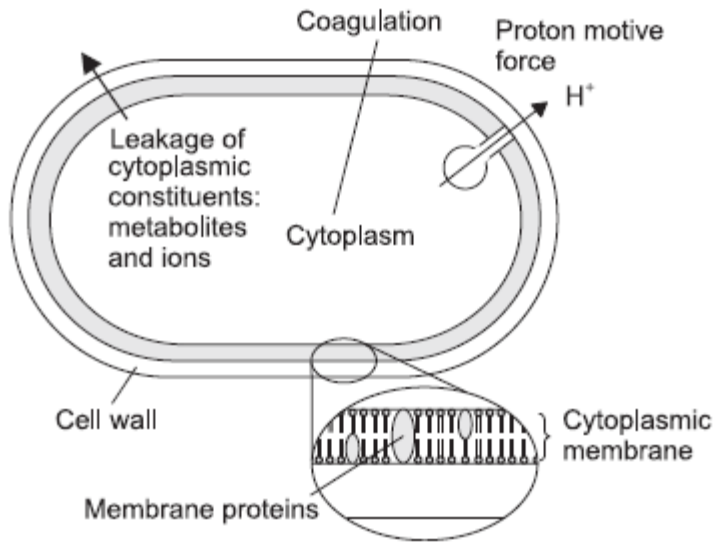
C. Visual Turbidity





4- Utilizzo di oli essenziali

- a) Oli essenziali sono liquidi oleosi aromatici ottenuti da materiale vegetale (fiori, germogli, semi, foglie, rami, cortecce, erbe, legno, frutti e radici). Possono essere ottenuti tramite fermentazione, o estrazione)
- b) Si conoscono oltre 3000 composti ma quelli più noti sono circa 300
- c) **CORIANDOLO, ORIGANO, TIMO, CANNELLA, AGLIO, THE**



4- Utilizzo di oli essenziali


- a) Verificare MIC per gli oli essenziali selezionati
- b) Modificare lettiere (verifica in vitro)
- c) Ambiente ostile – riduzione sopravvivenza *Campylobacter* nella pollina

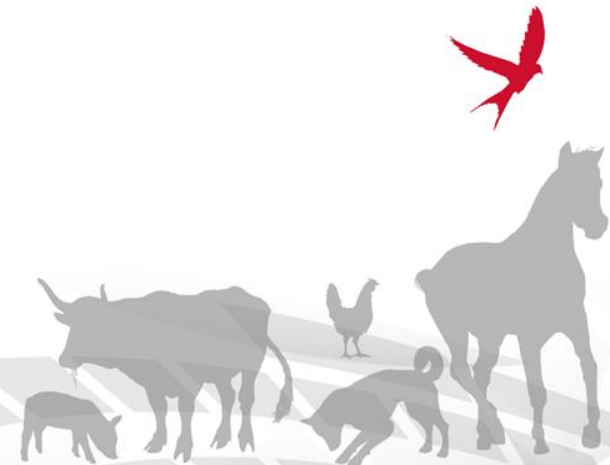


Università di Bologna
Dipartimento di Scienze Agrarie
Area di Microbiologia



Approccio integrato

- 
- a) Probiotici/prebiotici
 - b) Sistema di sorveglianza in campo
 - c) Fagoterapia
 - d) **Uso di olii essenziali**



Caratterizzazione molecolare



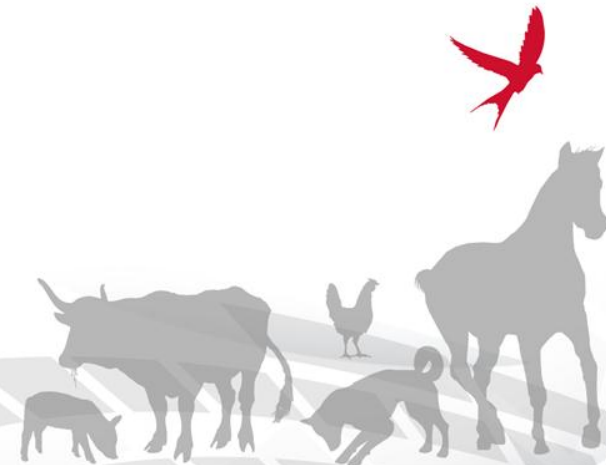
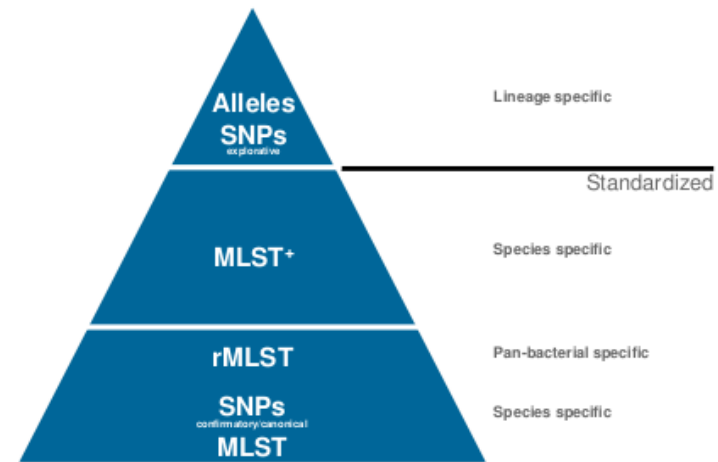
a) PFGE

b) Fla type

c) MLST 7 loci

d) rMLST

e) MLST extended 21 loci



Caratterizzazione molecolare

a) WGS

b) Messa a punto di un sistema MLST+

c) Oltre 2000 geni che potrebbero essere sequenziati e confrontati



PubMLST Databases Downloads BIGSdb Contact Site map

Google Custom Search Search

Bacterial Isolate Genome Sequence Database (BIGSdb)

Gene-by-gene population annotation and analysis

Written by Keith Jolley, © 2010-2013 University of Oxford

Jolley & Maiden 2010, *BMC Bioinformatics* 11:595 [cited by]

BIGSdb is software designed to store and analyse sequence data for bacterial isolates. Any number of sequences can be linked to isolate records - these can be small contigs assembled from dideoxy sequencing through to whole genomes (complete or multiple contigs generated from parallel sequencing technologies such as 454 or Illumina).

BIGSdb extends the principle of MLST to genomic data, where large numbers of loci can be defined, with alleles assigned by reference to sequence definition databases (which can also be set up with BIGSdb). Loci can also be grouped into schemes so that types can be defined by combinations of allelic profiles, a concept analogous to MLST.

BIGSdb runs most of the databases on this site.

The software has been released under the GNU General Public Licence version 3.

Download from [SOURCEFORGE](#)

- Installation
 - Installation guide
 - Frequently asked questions (FAQs)
- Database setup and administration
- User guide
- Data curation

BIGSdb

Browse *Neisseria* PubMLST database

Navigation
BIGSdb Home

Details
The BIGSdb software is written in Perl, also utilizing some client-side Javascript. It runs on Linux using the Apache web server and PostgreSQL database.

BIGSdb is open-source software, published under the GNU General Public Licence version 3.

Documentation
Download and installation
Database administration
User guide
Data curation
Developers



Ion Torrent Personal Genome Machine Sequencing for Genomic Typing of *Neisseria meningitidis* for Rapid Determination of Multiple Layers of Typing Information

Ulrich Vogel,* Rafael Szczepanowski,* Heiko Claus,* Sebastian Jünemann,* Karola Prieß* and Dag Hvarnæs*
Institute for Hygiene and Microbiology, University of Würzburg, Würzburg, Germany,* and Department for Perinatology, University of Münster, Münster, Germany*

- Focolaio *Neisseria meningitidis*
- MLST+ contiene 1241 gene
- Gene accessori 505
- Gene scartati 171 genes





 *Campylobacter*
Laboratorio Nazionale di Riferimento



Tiziana Persiani
Alessandra Alessiani
Francesca Marotta
Lorena Sacchini
Federico Di Fabio
Elisabetta Di Giannatale
Silvana Salvatore
Ilenia Platone
Gabriella Di Serafino
Katuscia Zilli
Alessandro Bartolacci
Sara Verrocchio
Giovanni Di Francesco

Grazie....

