



IZSAM G. CAPORALE  
TERAMO



*Campylobacter*

Laboratorio Nazionale di Riferimento

***CAPACITA' DIAGNOSTICA DELLA REAL TIME PCR NELLA  
RILEVAZIONE DI CAMPYLOBACTER  
NEGLI ALLEVAMENTI AVICOLI***

Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Campylobacter*  
CIFIV 15 Dicembre 2015


Dr.ssa Gabriella Di Serafino





7,5 milioni DALY's

214.779 casi di  
Campylobacteriosi nel  
2013



Spesa sistema sanitario  
EU 2,4 miliardi di euro  
annui

63,3% allevamenti  
avicoli italiani positivi

30% da fonte alimentare  
avicola  
70% contatto con animali  
infetti

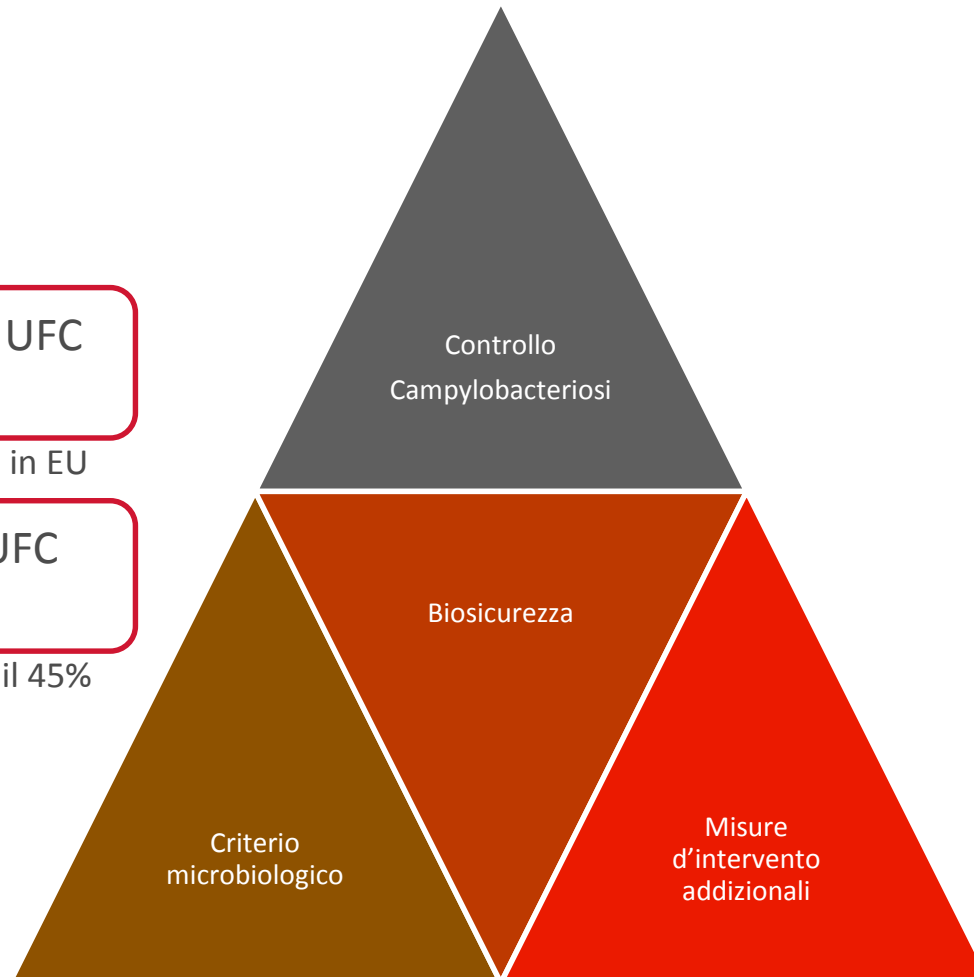


• **Criterio microbiologico 1000 UFC**  
riduzione rischio 50%

- 15% di produzione fuori dal criterio in EU

• **Criterio microbiologico 500 UFC**  
riduzione rischio 90%

- una produzione fuori dai limite per il 45%



# Scopo del lavoro



**Analisi dei lotti  
di animali in  
premacellazione  
(31 - 41 gg)**

**Logistic slaughter  
(EFSA Journal 2011)**

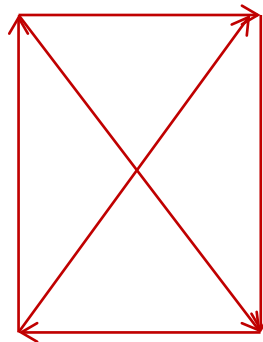


# Materiali e metodi

Real Time  
PCR

Valutazione  
diagnostica

13 allevamenti  
49 box  
calzari



41 - 45 gg.  
pollo pesante



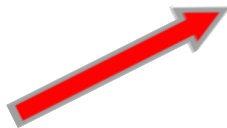
31 gg. pollo  
roscicceria

Valutazione  
analitica

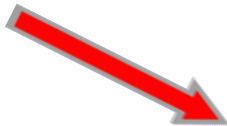




# Materiali e metodi



Semina su Karmali agar  
Tempi: 2 gg.



**Gene target: 16s**  
Sonda TaqMan  
Tempi: 2 ore

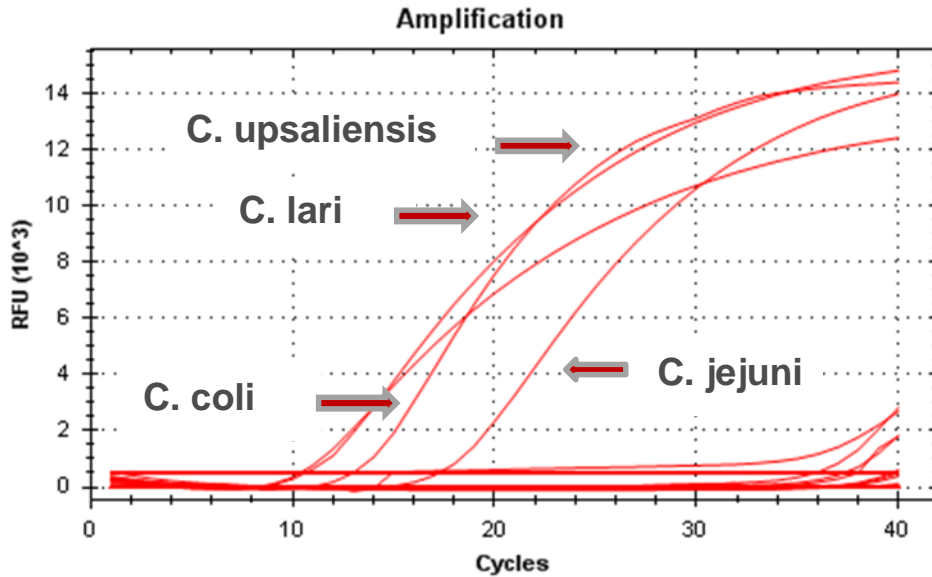
95°C – 5 min  
95°C – 15 sec  
58°C – 30 sec  
72°C – 30 sec  
72°C – 5 min



40 cicli



# Specificità e LOD

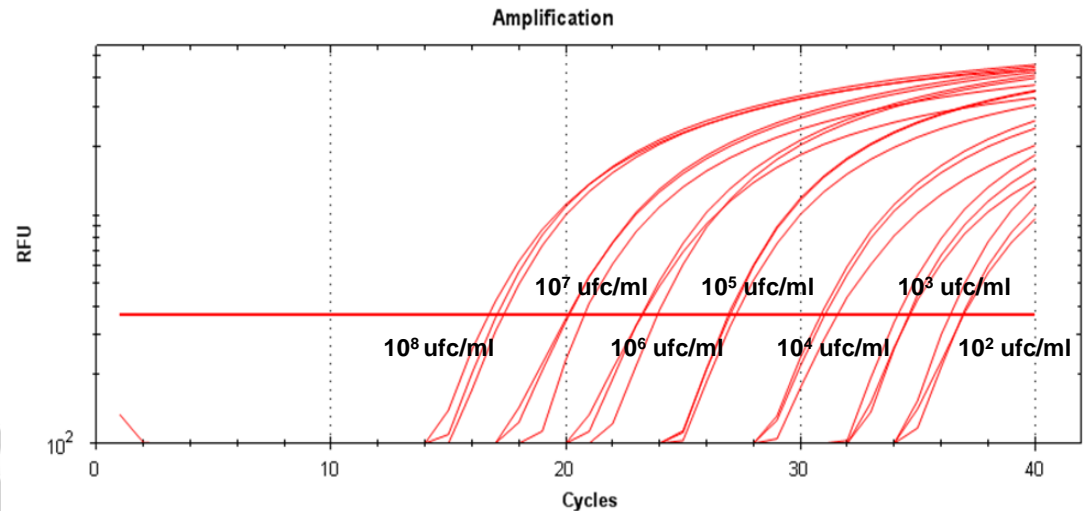


- Campylobacteriaceae: *C. fetus*, *Helicobacter* spp, *Arcobacter* spp.

- Altri microrganismi: *E. coli*, *Salmonella* spp, *Lactobacillus* spp.

- Boot sock contaminato sperimentalmente con *C. jejuni* ( $10^9$  ufc/ml)

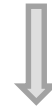
- LOD:  $10^2$  ufc/ml



# Sensibilità

Risultati Real-time PCR	Risultati semina diretta		
	+	-	Totale
+	43	0	43
-	0	6	6
<b>Totale</b>	43	6	<b>49</b>

**Conferma dei  
risultati  
al mattatoio**

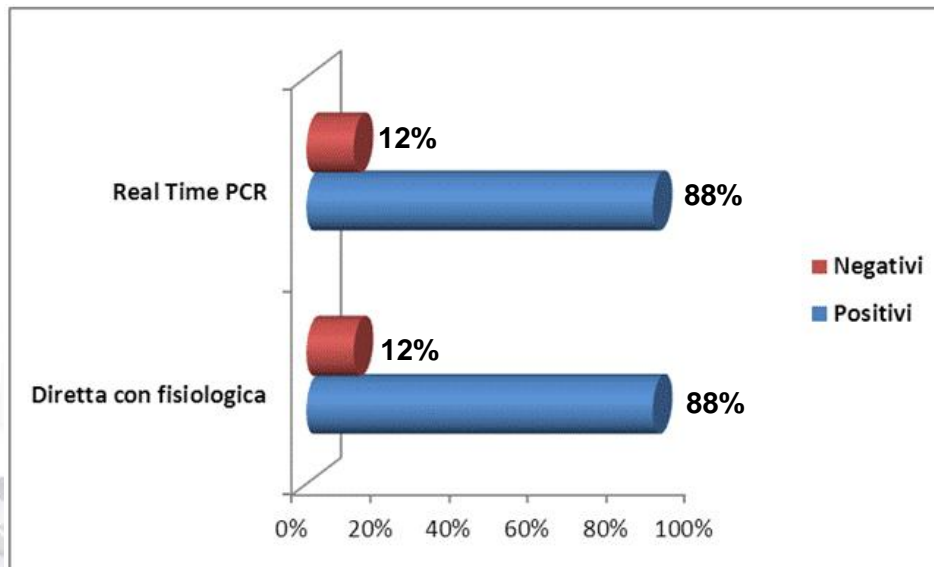
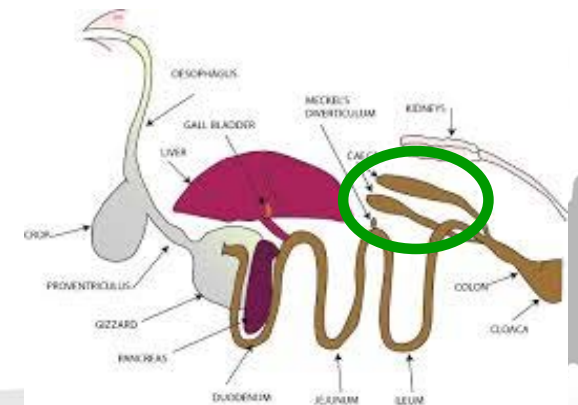


**Ricerca Campylobacter**



+

**Numerazione Campylobacter**



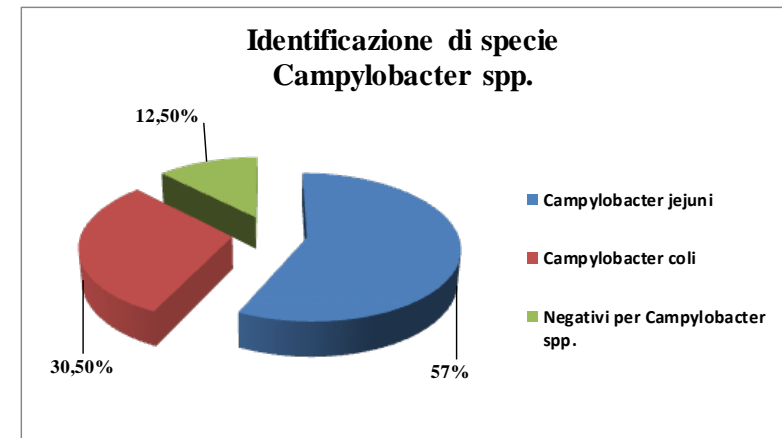


# Quantificazione *Campylobacter* spp.

43 box positivi, 6 box negativi per *Campylobacter* spp.

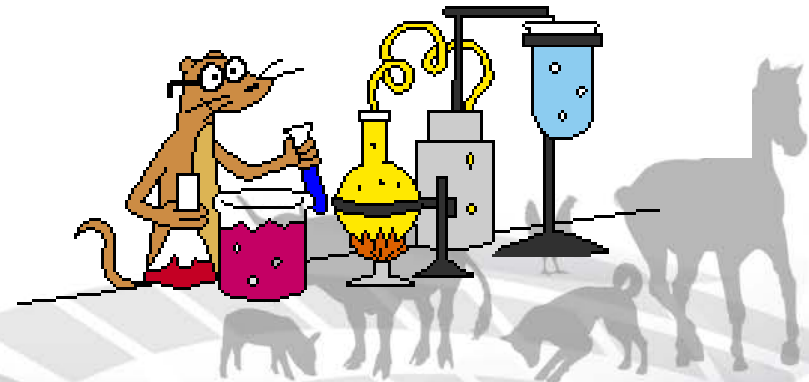
N. campioni	Carica ( $\log_{10}$ )
23	$10^5 \text{ Log}_{10}/\text{ml}$
14	$10^6 \text{ Log}_{10}/\text{ml}$
6	$10^7 \text{ Log}_{10}/\text{ml}$

Calzari	Controllo al macello		
	+	-	Totale
+	10	0	10
-	0	3	3
<b>Totale</b>	10	3	<b>13</b>



# Conclusioni

- Possibilità di utilizzo come metodo di screening
- Rapidità del test: 2 gg **vs** 2 ore
- Prospettive future: utilizzo di test rapidi “on farm”





IZSAM G. CAPORALE  
TERAMO

 **Campylobacter**  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

# Ringraziamenti

Dott.ssa Elisabetta Di Giannatale

Dott. Giuliano Garofolo

LNRC / Reparto di Batteriologia IZS A&M "G. Caporale"

Grazie per  
l'attenzione!

