



IZSAM G. CAPORALE
TERAMO



Campylobacter

Laboratorio Nazionale di Riferimento

**Studio di caratterizzazione del
microbiota di pollo nelle aziende
avicole italiane**

Lisa Di Marcantonio, PhD
Unità di Batteriologia

Teramo, 26 Giugno 2020



CAMPIONAMENTO



Campylobacter
Laboratorio Nazionale di Riferimento



13 Farms



**Tamponi
cloacali**

**Contenuto ciecale
da carcasse**

Estrazione DNA

- QIAmp DNA Stool Mini Kit
- Sequenziamento NGS**
- Sequenziamento gene rRNA16s

Polli da Carne Ross® 308
In allevamenti **Biologici, Antibiotic free**
e **convenzionali**

-VALUTAZIONE BENESSERE ANIMALE

- Ricerca **Campylobacter**
ISO 10272-1:2006
- Prevalenza **Campylobacter**

Total Welfare Score = l'housing, nutrizione, salute e comportamento da 1 a 5
Usando protocollo "Welfare Quality" (variabile da 0 a 400)

Obiettivi

Composizione del microbiota intestinale a livello del Phylum:

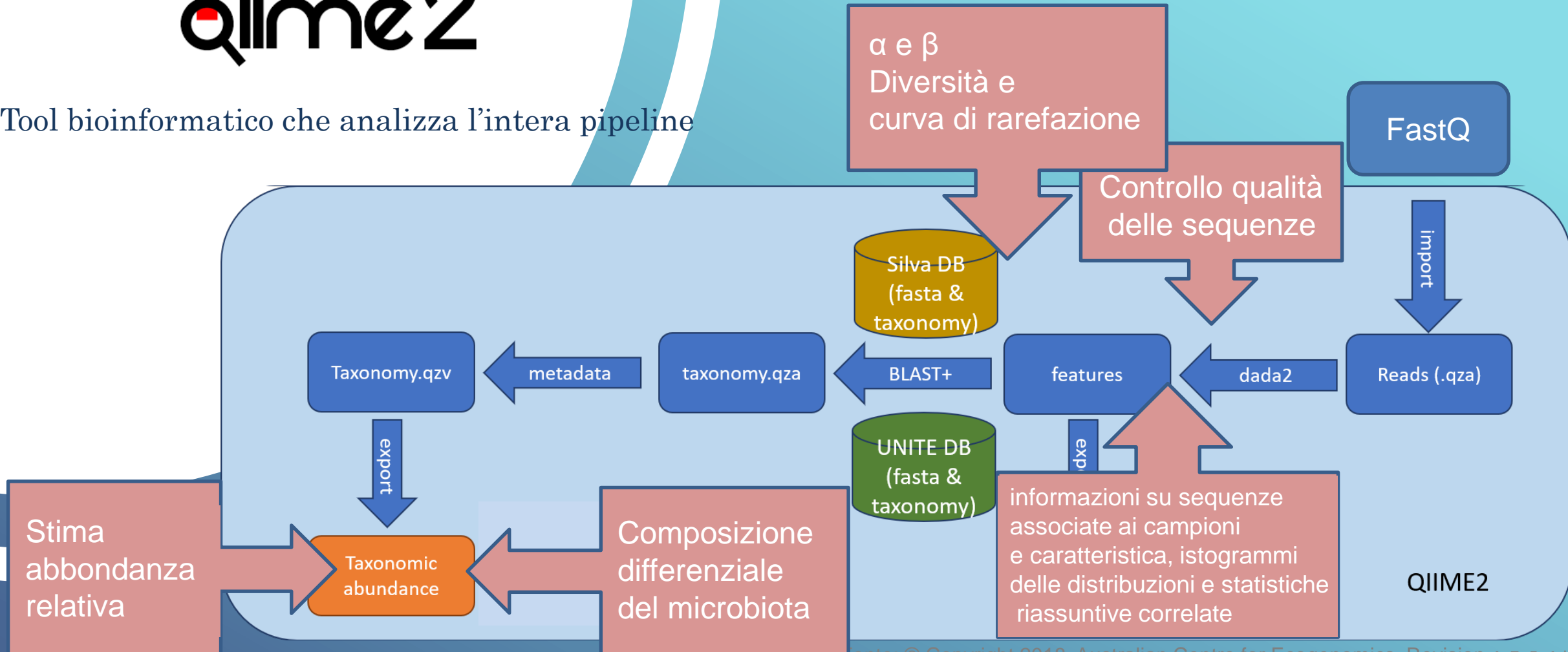
- In individui con basso e alto livello di colonizzazione del *Campylobacter*.
- In relazione al livello del benessere animale
- Età dei polli (44 e 84 giorni)
- Al tipo di Farm (Antibiotic free, Organic, convenzionale)



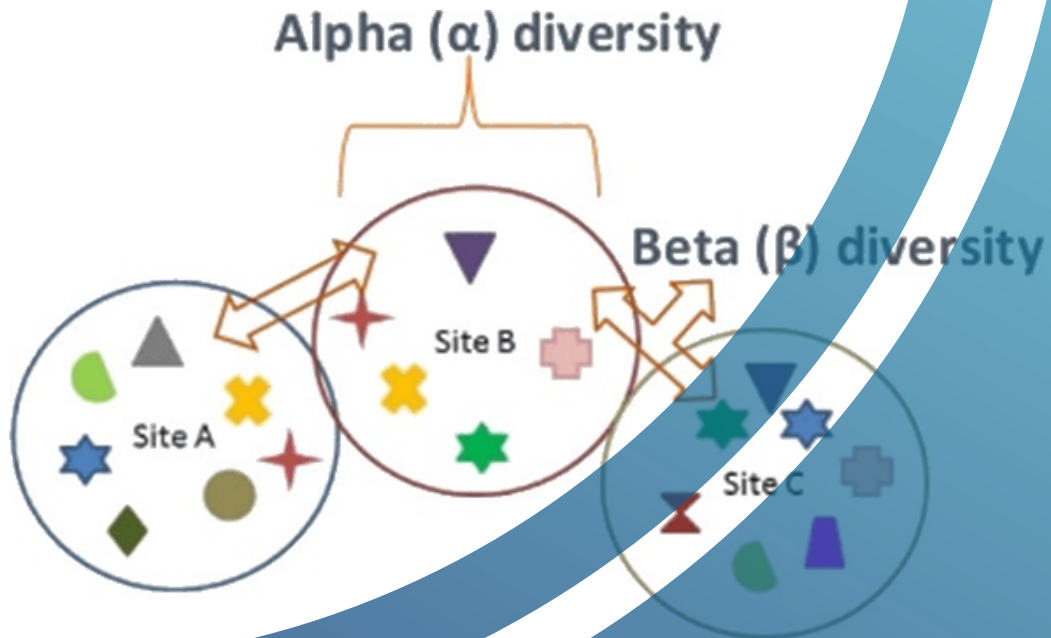
Analisi dei dati NGS



Tool bioinformatico che analizza l'intera pipeline



NGS data analysis



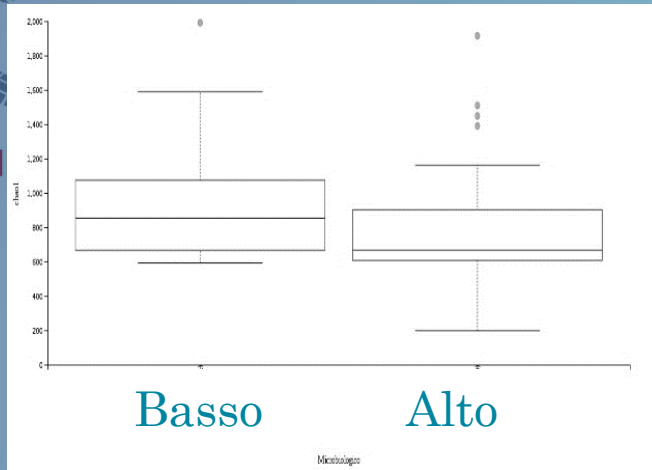
Alfa-Diversità=Rappresenta la diversità batterica presente in un determinato campione



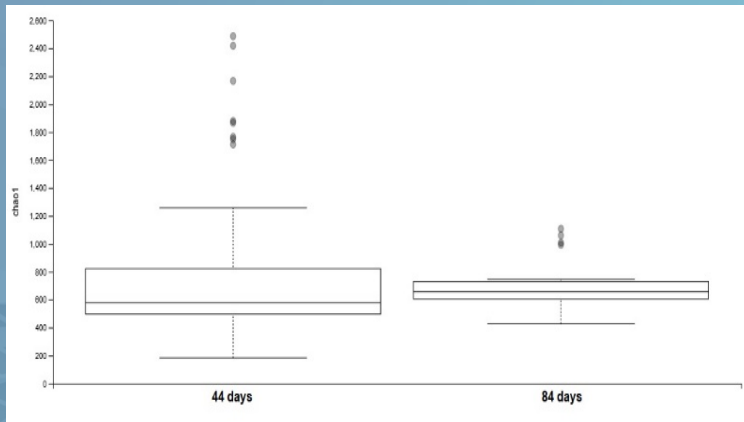
Beta-Diversità=Rappresenta la dissimilarità batterica tra diversi campioni



NGS data analysis

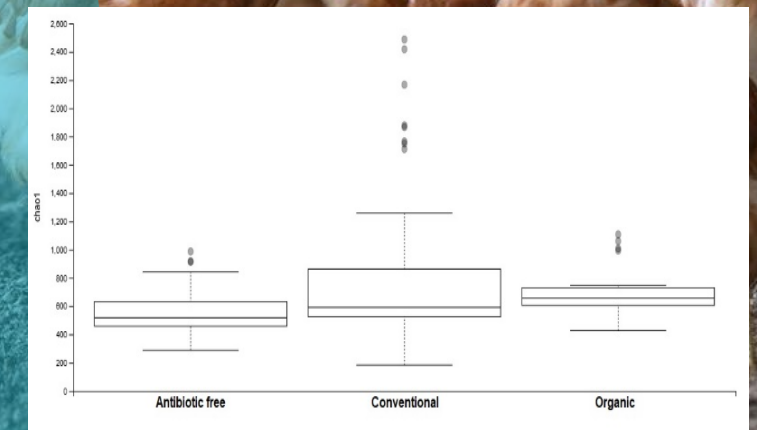
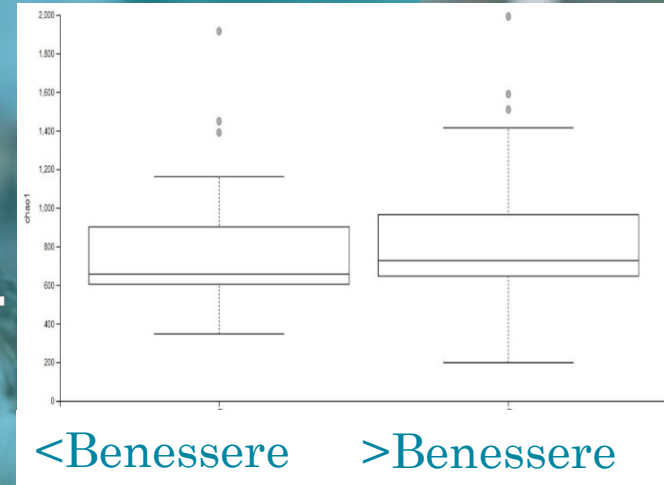


L'analisi di Alfa-diversità con Chao1 è una misura della ricchezza di specie basata sulle OTUs per i campioni fecali con Bassi e Alti livelli di colonizzazione di *Campylobacter*. E' stata osservata una differenza significativa tra i due gruppi analizzati. P-VALUE 0.012, mentre l'Alfa-diversità nei polli di 44 e 84 giorni non vi è stata significatività. P-VALUE 0.12



Nei campioni fecali dei polli a Basso ed Alto livello di benessere non è stata osservata una differenza significativa tra i due gruppi analizzati. P-VALUE 0.243

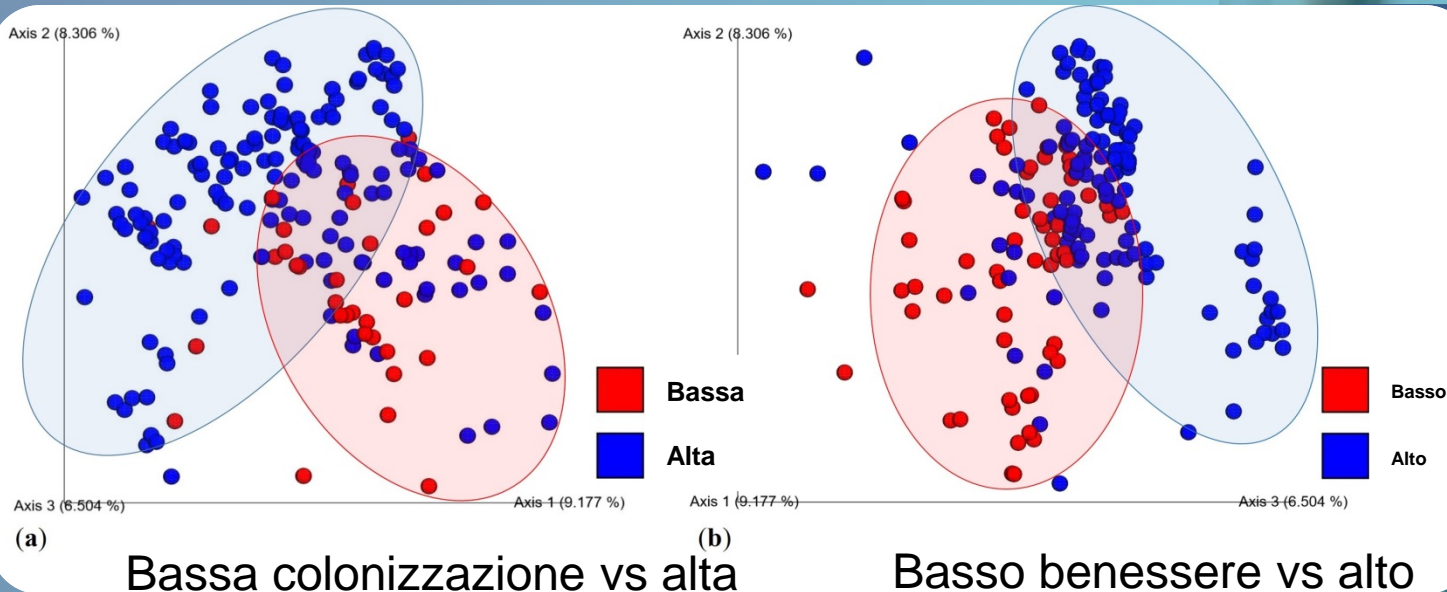
Mentre i polli Organic e Conventional hanno presentato una Alfa diversità statisticamente significativa se comparati con gli Antibiotic free



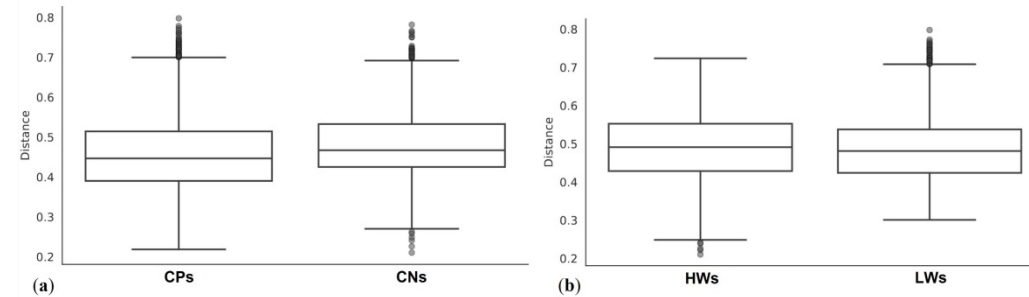
Group 1	Group 2	
AntibioticFree	Conventional	p-value 0.003
AntibioticFree	Organic	p-value 0.003
Conventional	Organic	p-value 0.4

Risultati dei dati NGS

Plot PCoA basato sulla unweighted UniFrac distances a quantitative measure of community dissimilarity (si basa sulla presenza assenza dei diversi taxa, l'abbondanza degli stessi non è importante)



P-value 0.001



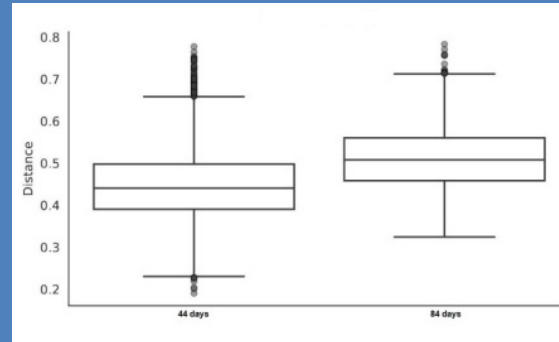
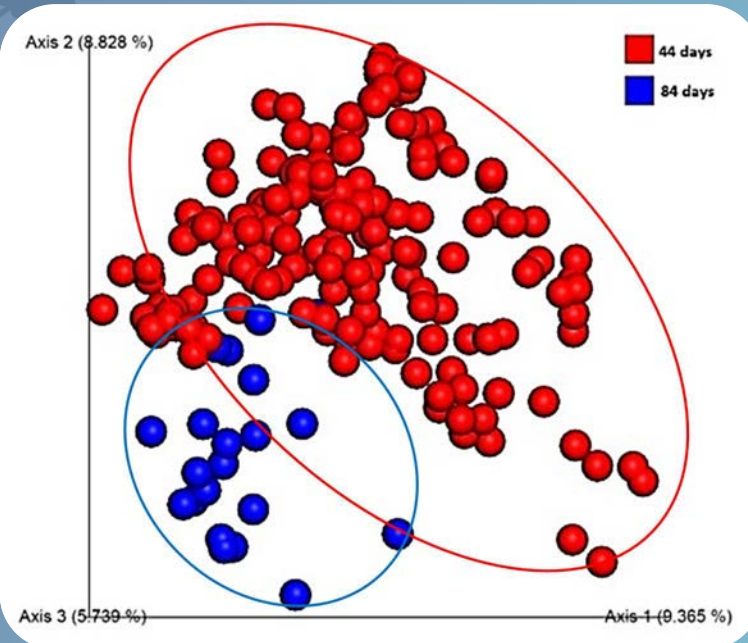
Dissimilarità batterica tra campioni con basso e alto livello di colonizzazione di *Campylobacter* e basso e alto livello di benessere

Risultati dei dati

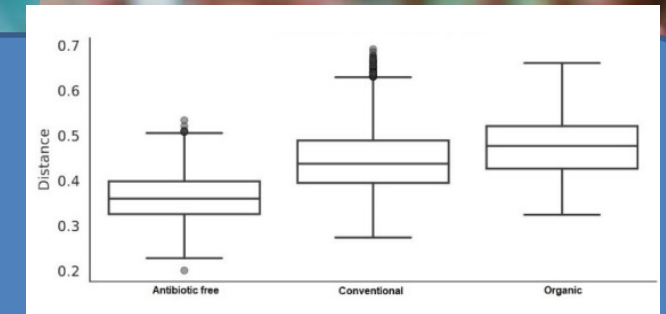
Beta diversità tra campioni positivi e negativi al *Campylobacter*

NGS

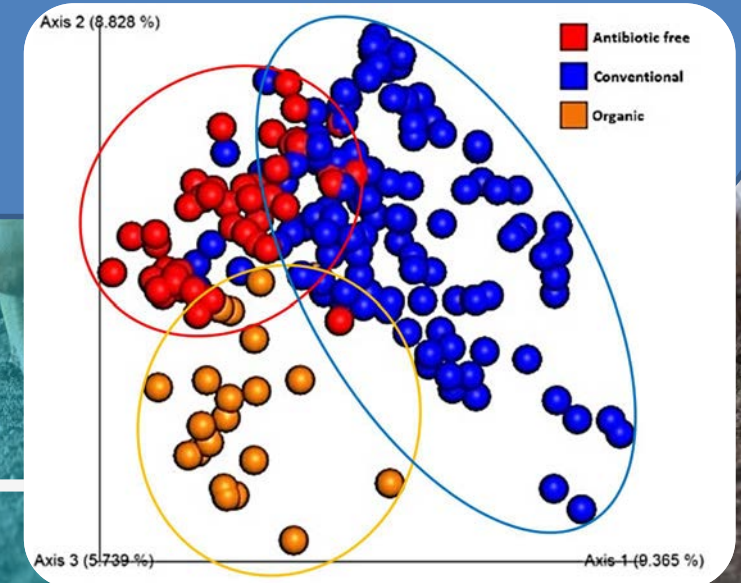
Plot PCoA basato sulla unweighted UniFrac distances a quantitative measure of community dissimilarity (si basa sulla presenza assenza dei diversi taxa, l'abbondanza degli stessi non è importante)



Dissimilarità batterica tra campioni di
44 e 84 giorni
P-value 0.001



P-value 0.001



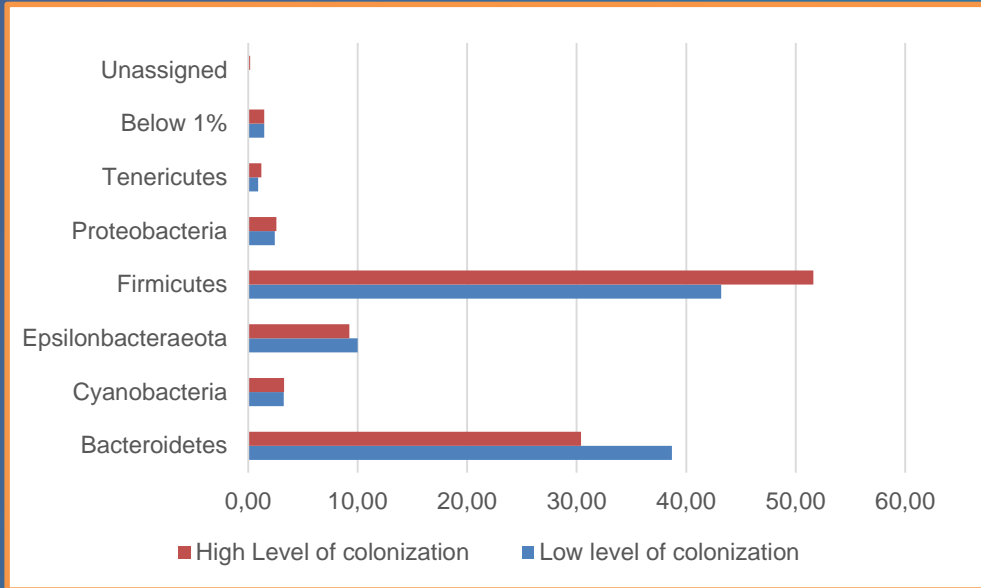
Dissimilarità batterica tra campioni
Antibiotic free, conventional, organic

Risultati dei dati

Abbondanza relativa Phylum

NGS

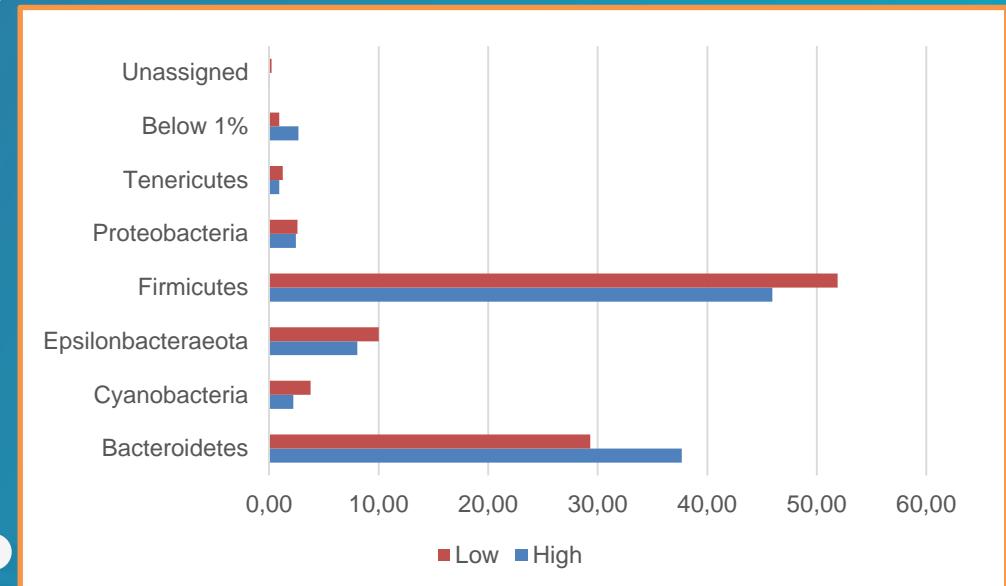
Bassa colonizzazione vs alta



	Alta colonizzazione	Bassa colonizzazione
Firmicutes	++	+
Bacteroidetes	+	++

	Alto benessere	Basso benessere
Firmicutes	+	++
Bacteroidetes	++	+

BENESSERE

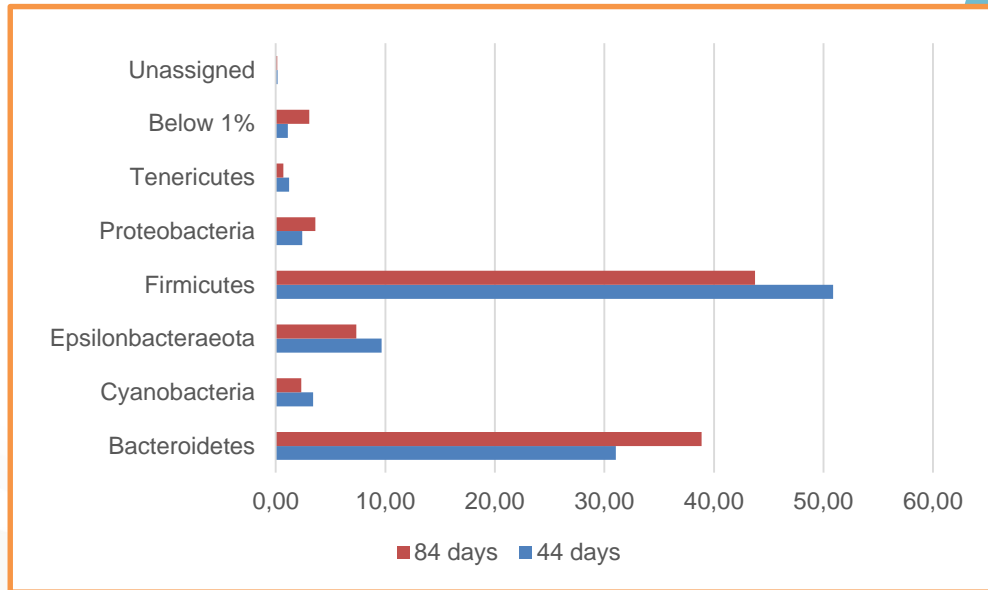


Risultati dei dati NGS

Phylum

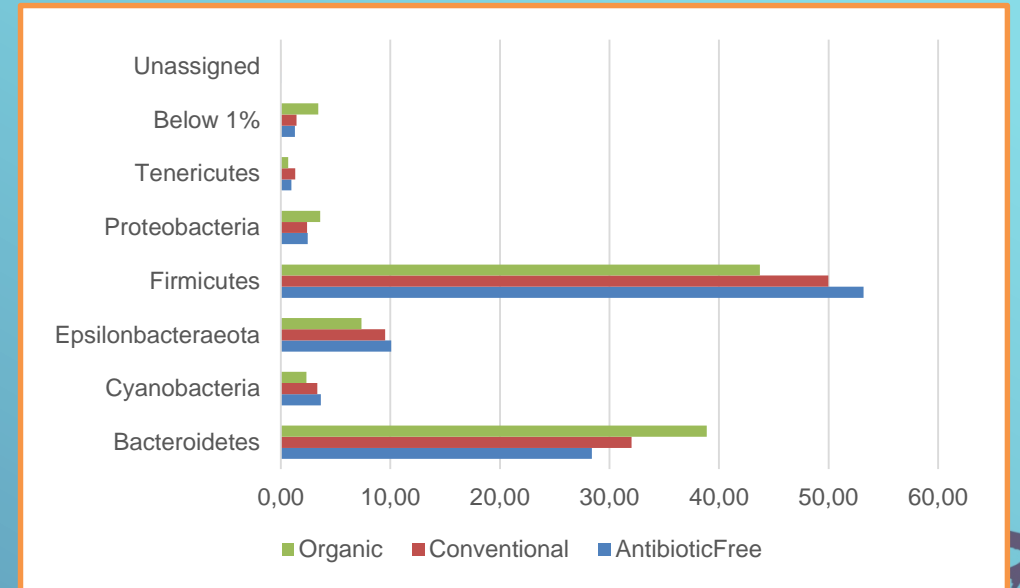
Abbondanza relativa

Età dei polli



	44 giorni	84 giorni
Firmicutes	++	+
Bacteroidetes	+	++

Tipologia di Farm



	Biologico	Convenzionale	Antibiotic free
Firmicutes	+	++	+++
Bacteroidetes	+++	++	+

Conclusioni



 **Campylobacter**
Laboratorio Nazionale di Riferimento

I Firmicutes e Bacteroidetes rappresentano l'80% di tutto il microbiota

I *Firmicutes* aumentano nei polli con alti livelli di colonizzazione e basso livello di benessere mentre diminuiscono nei polli a 84 giorni con un aumento dei *Bacteroidetes*, probabilmente potrebbe esserci una correlazione tra bassi livelli del benessere animale e la presenza di alti livelli colonizzazione del *Campylobacter*

L'aumento dell'assunzione di fibre nei polli biologici aumenta l'abbondanza di *Bacteroides* diminuendo il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes*, aumento dei *Firmicutes* nei polli Convenzionali e Antibiotic free mentre i *Bacteroidetes* aumentano nei Biologici

Un alto rapporto di *Firmicutes/Bacteroidetes* promuove l'ingrasso dei polli convenzionali e Antibiotic free.

Le funzioni metaboliche attive nell'intestino dei polli possono variare a causa delle diverse composizioni del microbiota intestinale

La carne di pollo Biologico ha un contenuto proteico più alto e una migliore capacità di trattenere l'acqua che può migliorare la qualità della carne.

L'aggiunta di probiotici ai mangimi per polli o le condizioni di allevamento potrebbero aumentare la qualità della carne aumentando il contenuto proteico della stessa. È inoltre probabile che le fasi di ingrasso siano correlate ai cambiamenti nelle composizioni del microbiota intestinale.





IZSAM G. CAPOREALE
TERAMO

 *Campylobacter*
Laboratorio Nazionale di Riferimento

