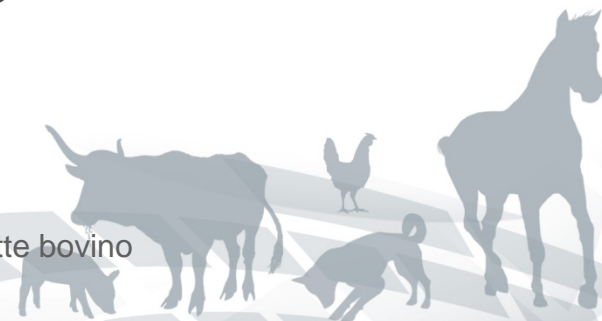




ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

*Identificazione e caratterizzazione di ceppi di *Campylobacter jejuni* isolati da latte bovino.*

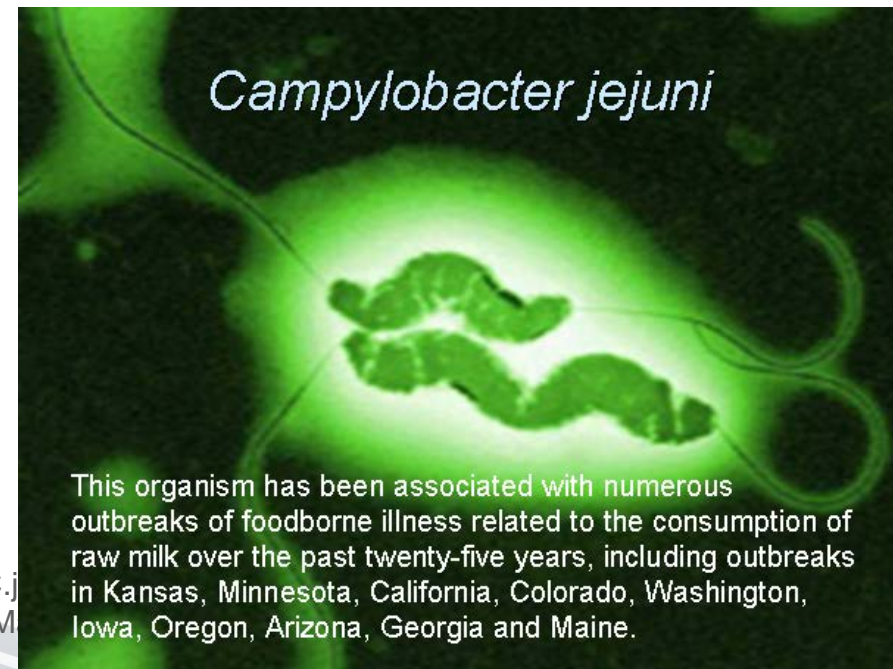
Identificazione e caratterizzazione di *C.jejuni* isolati da latte bovino
A. Alessiani & F. Marotta





Campioni pervenuti al Laboratorio Nazionale di Riferimento per Campylobacter 2008-2010.

- Nel triennio 2008-2010 sono pervenuti al LNRC 12 ceppi di Campylobacter isolati da latte crudo bovino.
- 1 *C. coli*
- 1 negativo
- 10 *C. jejuni*



In particolare...



- 6 ceppi isolati da latte crudo provenienti dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta.



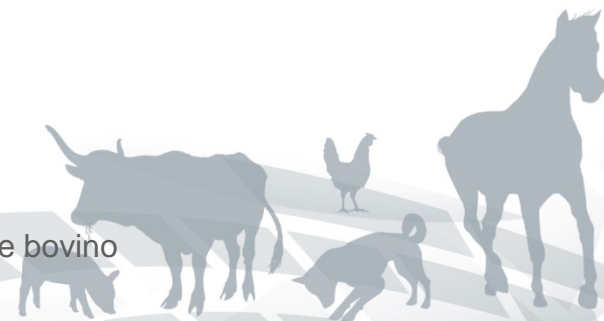
Caratterizzazione di *C.jejuni* isolati da latte bovino
A. Alessiani & F. Marotta





Identificazione e Caratterizzazione dei ceppi.

- Polymerase Chain Reaction (Wang et al. 2002).
- PCR-RFLP (Marshall et al. 1999).
- Pulsed Field Gel Electrophoresis (Pulsenet 2008).
- Sequenziamento del QRDR (Zirnstein 1999) .





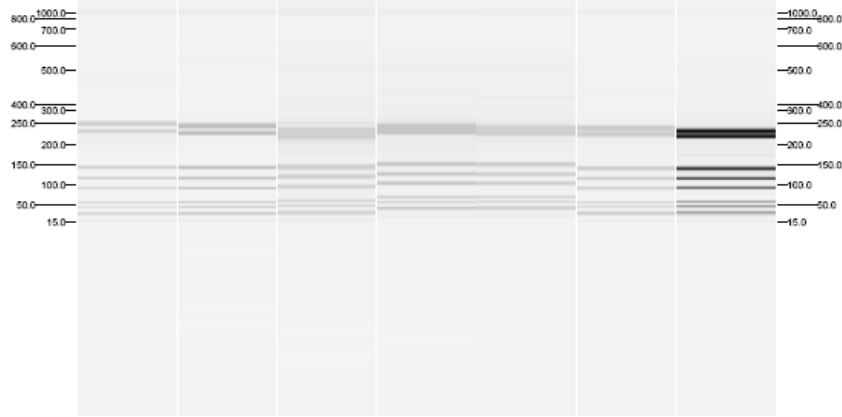
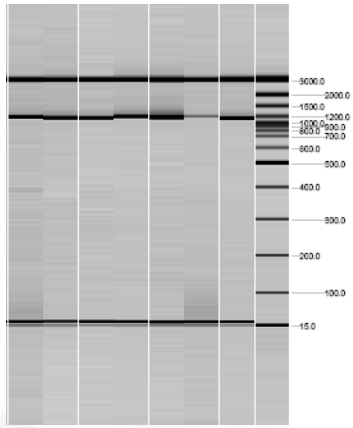
ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

Identificazione dei ceppi

● PCR-RFLP

profilo
jejuni/coili

16S



Identificazione di C.jejuni isolati da latte bovino
essiani & F. Marotta



Identificazione dei ceppi

- API CAMPY

API Campy

Chiudi

TEST NEGATIVO



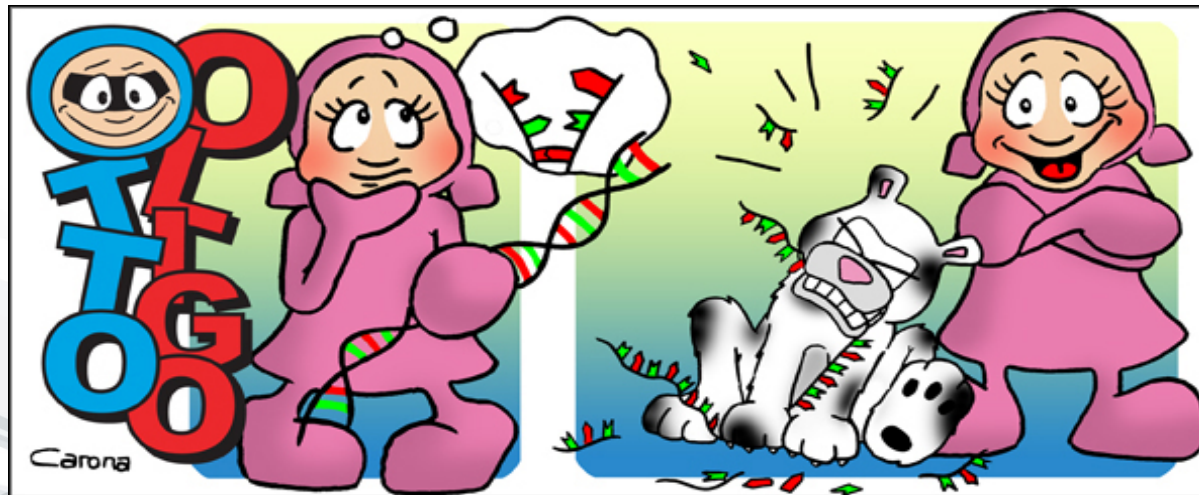
TEST POSITIVO



Caratterizzazione dei ceppi

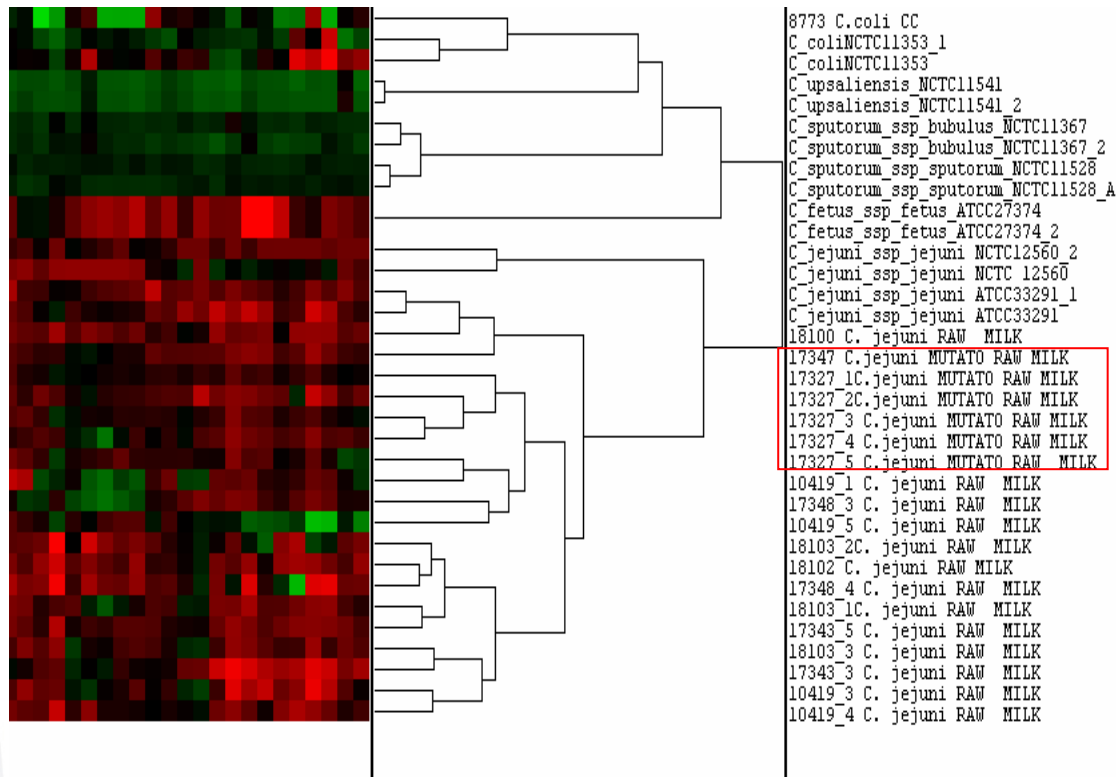
Antibiogramma e Sequenziamento girasi:

- Sensibili a tutti gli antibiotici testati.
- Non allineavano perfettamente né con la girasi A del *C. jejuni* né con quella del *C. coli*.



Caratterizzazione dei ceppi

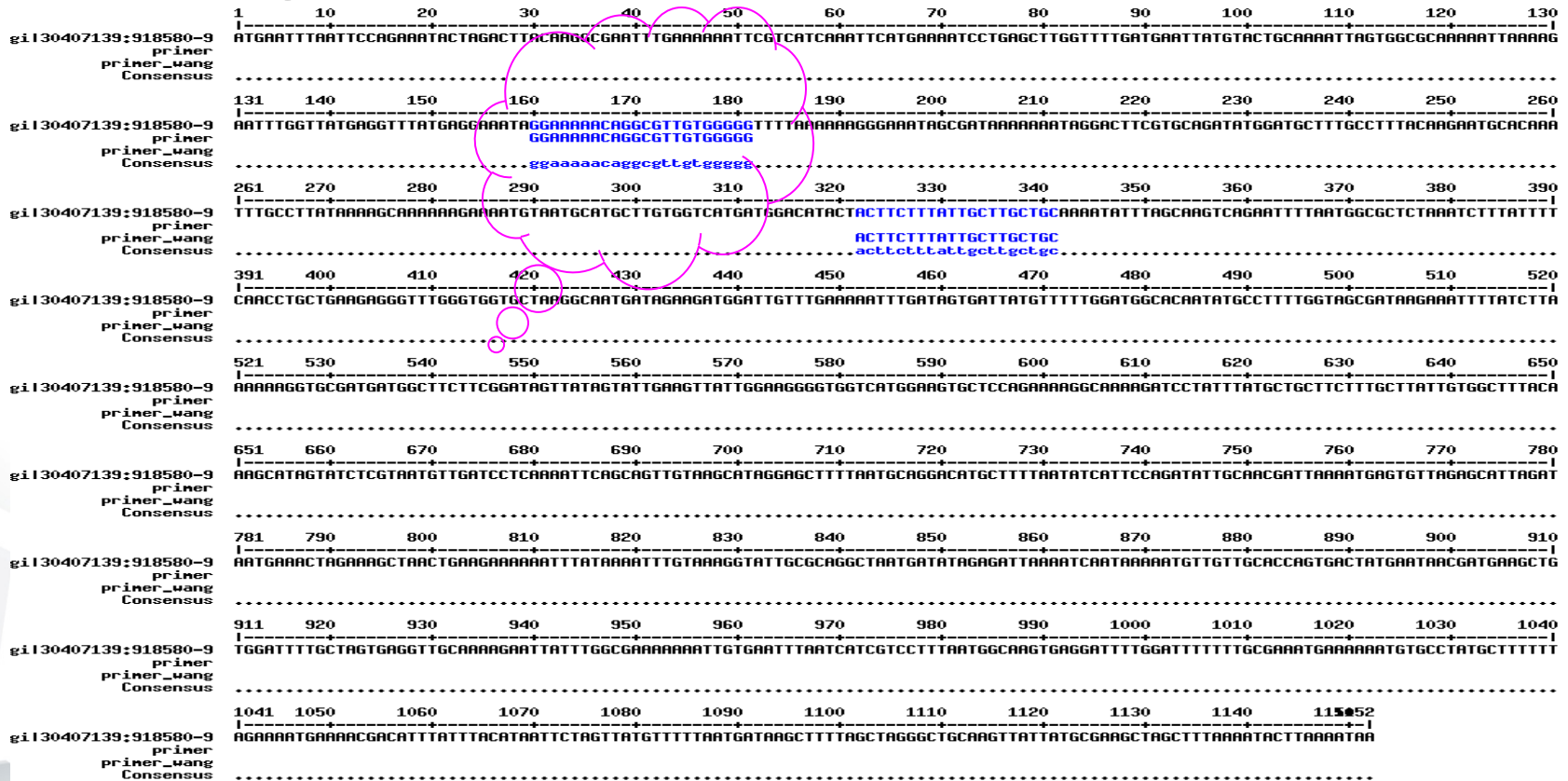
- *Microarray*





Identificazione dei ceppi

• Disegno dei nuovi primers per hipO !!!!!



Identificazione dei ceppi

- Sequenziamento del prodotto di PCR

```

1      10     20     30     40     50     60     70     80     90     100    110    120    130
-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
nctc11168 MNLIP EILD LQGEFEKIRHQIHENPELGFDELCTAKLVAAKLKEFGYEVYEEIGKTVGVVGLKKGNSDKKTGLRADMDALPLQECTNLPYKSKKENVNHACGHGHTTSLLLAARKYLASQNFNGLNLYF
3902      MNLIP EILD LQGEFEKIRHQIHENPELGFDELCTAKLVAAKLKEFGYEVYEEIGKTVGVVGLKKGNSDKKTGLRADMDALPLQECTNLPYKSKKENVNHACGHGHTTSLLLAARKYLASQNFNGLNLYF
z36940    MNLIP EILD LQGEFEKIRHQIHENPELGFDELCTAKLVAAKLKEFGYEVYEEIGKTVGVVGLKKGNSDKKTGLRADMDALPLQECTNLPYKSKKENVNHACGHGHTTSLLLAARKYLASQNFNGLNLYF
4Inf
4Sup
Consensus .....LEKPALHG-FKRGNSDKKTGLRADMDALPLQECTNLPYKSKKENVNHACGHGHTTSLLLAARKYLASQNFNGLNLYF
                                     |k.....g.k.gnsdkkiglradmdalplqectnlpykskkenvnhacghgghttslllaaky lasqnfngalnlyf

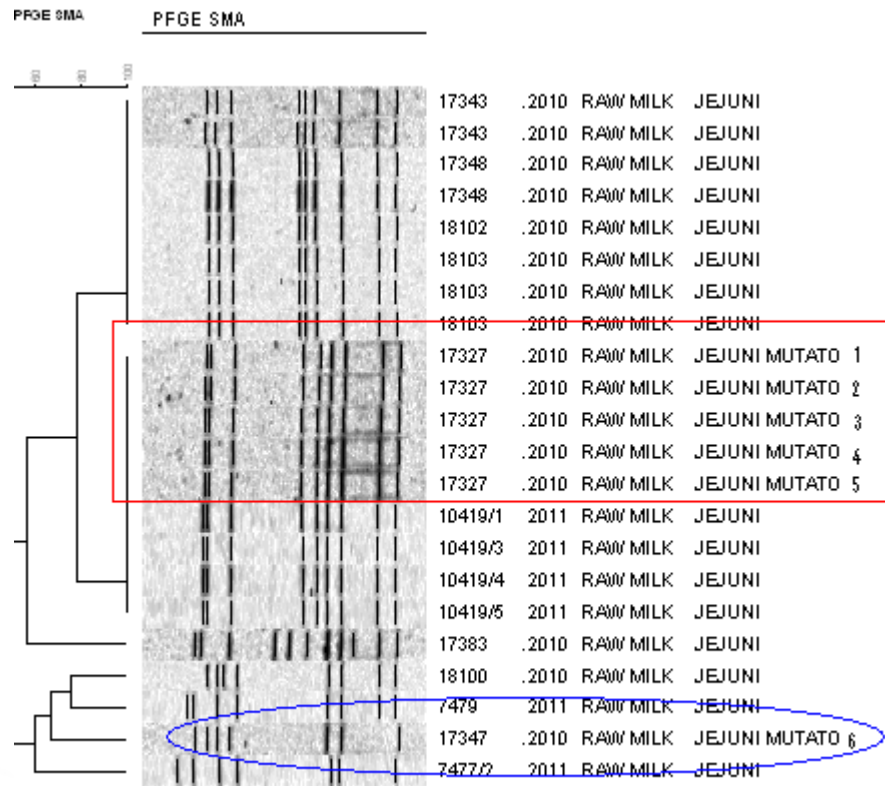
131     140     150     160     170     180     190     200     210     220     230     240     250     260
-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
nctc11168 QPAEEGLGGA KAMIEDGLFEKFDSDYVFGHNNPFGSDKKFYLKKGAMHASSDSYSIEVIGRGGHSAPEKAKDPIYAASLLIYALQSIYSRNVDPQNSAVYSIGAFNAGHAFNIIPDIATIKHSVRALD
3902      QPAEEGLGGA KAMIEDGLFEKFDSDYVFGHNNPFGSDKKFYLKKGAMHASSDSYSIEVIGRGGHSAPEKAKDPIYAASLLIYALQSIYSRNVDPQNSAVYSIGAFNAGHAFNIIPDIATIKHSVRALD
z36940    QPAEEGLGGA KAMIEDGLFEKFDSDYVFGHNNPFGSDKKFYLKKGAMHASSDSYSIEVIGRGGHSAPEKAKDPIYAASLLIYALQSIYSRNVDPQNSAVYSIGAFNAGHAFNIIPDIATIKHSVRALD
4Inf      LPAEEGLGGA KAMIEDGLFEKFDSDYVFGHNNPFGSDKKFYLKKGAMHASSDSYSIEVIGRGGHSAPEKAKDPIYAASLLIYALQSIYSRNVDPQNSAVYSIGAFNAGHAFNIIPDIATIKHSVRALD
4Sup      QPAEEGLGGA KAMIEDGLFEKFDSDYVFGHNNPFGSDKKFYLKKGAMHASSDSYSIEVIGRGGHSAPEKAKDPIYAASLLIYALQSIYSRNVDPQNSAVYSIGAFNAGHAFNIIPDIATIKHSVRALD
Consensus qPAEEGLGGA KAMIEDGLFEKFDSDYVFGHNNPFGSDKKFYLKKGAMHASSDSYSIEVIGRGGHSAPEKAKDPIYAASLLIYALQSIYSRNVDPQNSAVYSIGAFNAGHAFNIIPDIATIKHSVRALD

261     270     280     290     300     310     320     330     340     350     360     370     380383
-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
nctc11168 NETRKLTEEKIYKICKGIAQANDIEIKINKNVVAPVTHNDEAVDFASEYAKELFGEKNCDFNHRPLHASEDFGFFCEMKKAYAFLENENDIYLNHSSYVFNOKLLARAASYYAKLALKYLK
3902      NETRKLTEEKIYKICKGIAQANDIEIKINKNVVAPVTHNDEAVDFASEYAKELFGEKNCDFNHRPLHASEDFGFFCEMKKAYAFLENENDIYLNHSSYVFNOKLLARAASYYAKLALKYLK
z36940    NETRKLTEEKIYKICKGIAQANDIEIKINKNVVAPVTHNDEAVDFASEYAKELFGEKNCDFNHRPLHASEDFGFFCEMKKAYAFLENENDIYLNHSSYVFNOKLLARAASYYAKLALKYLK
4Inf      NETRKLTEEKIYKICKGIAQANDIEIKINKNVVAPVTHNDEAVDFASEYAKELFGEKNCDFNHRPLHASEDFGFFCEMKKAYAFLENENDIYLNHSSYVFNOKLLARAASYYAKLALKYLK
4Sup      NETRKLTEEKIYKICKGIAQANDIEIKINKNVVAPVTHNDEAVDFASEYAKELFGEKNCDFNHRPLHASEDFGFFCEMKKAYAFLENENDIYLNHSSYVFNOKLLARAASYYAKLALKYLK
Consensus netrklteekiykickgiaqandiekinknv.....

```



Pulsed Field Gel Electrophoresis



Concludendo:

- E' possibile che si stia diffondendo sul territorio nazionale una variante di *Campylobacter jejuni* che finora non era stata ancora rilevata.
- La caratterizzazione del ceppo deve essere approfondita.
- Per saperne di più ... Bisognerebbe aumentare i campionamenti su latte crudo bovino!





ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

Grazie per l'attenzione



**IL LAVORO E' COSI' BELLO,
CHE SE NE LASCIA SEMPRE UN PO' PER L'INDOMANI!**

Identificazione e caratterizzazione di C.jejuni isolati da latte bovino
A. Alessiani & F. Marotta

