



Suscettibilità e resistenza genetica alla paratubercolosi

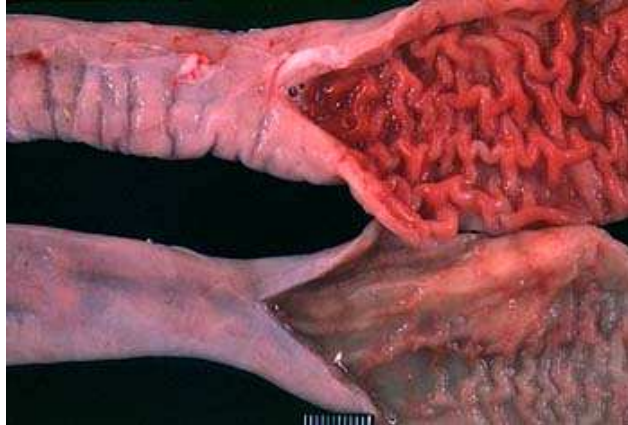
Lorraine Pariset & Alessio Valentini
DIBAF

Paratubercolosi – malattia di Johnes



Mycobacterium avium subsp.
Paratuberculosis (MAP)

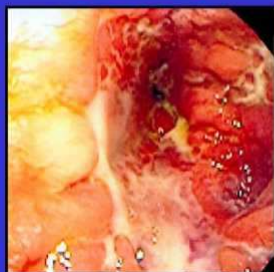
Lesioni causate da MAP



MAP e malattia di Crohn

RESPONDERS

BEFORE



Pt # 1 on 6-17-99

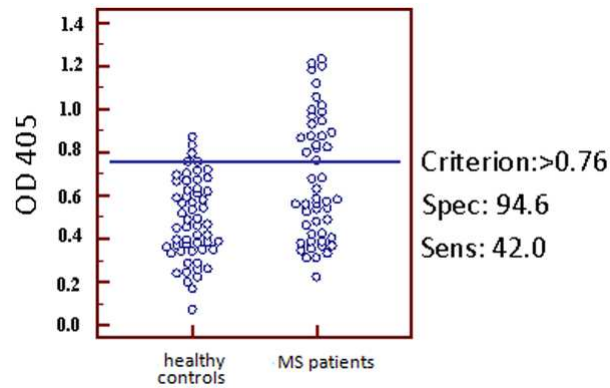
AFTER



Pt # 1 on 5-3-00

Open clinical trial of Rifabutin and Clarithromycin therapy in Crohn's Disease.
I. Shafran, L. Kugler, F.A.K. El-Zaatari, S.A. Naser, J. Sandoval,
Digestive and Liver Disease, 34, (1) 22-28 (2002)

MAP e Sclerosi multipla



Cossu D, Cocco E, Paccagnini D, Masala S, Ahmed N, et al. 2011 Association of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* with Multiple Sclerosis in Sardinian Patients. PLoS ONE 6(4): e18482. doi:10.1371/journal.pone.0018482

Ospiti selvatici di MAP

Map strain types infecting multiple host species on a single property

Property	Typing profile	Species
EN	[2-1] INMV1 C17	Cow, hare, rabbit, rook, stoat
CF	[2-1] INMV1 C17	Crow, fox, rabbit (5)
DR	[2-1] INMV1 C17	Cow, rabbit (4), woodmouse
GE	[2-1] INMV1 C17	Fox, stoat (2), weasel
I	[2-1] INMV1 C17	Rabbit, sheep
R	[2-1] INMV1 C17	Cow, rabbit
KV	[2-19] INMV2 C5	Goat, sheep

Numbers in parenthesis indicate the number of animals of that species identified with the given typing profile

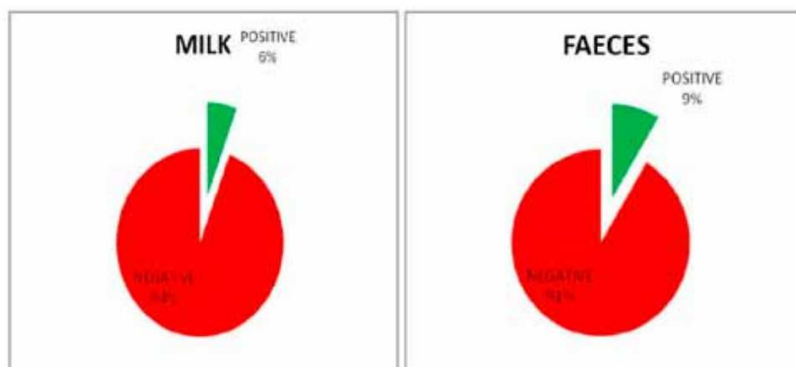
Stevenson et al. BMC Microbiology 2009 9:212 doi:10.1186/1471-2180-9-212

Trasmissione del MAP

- Latte
- Feci
- suolo

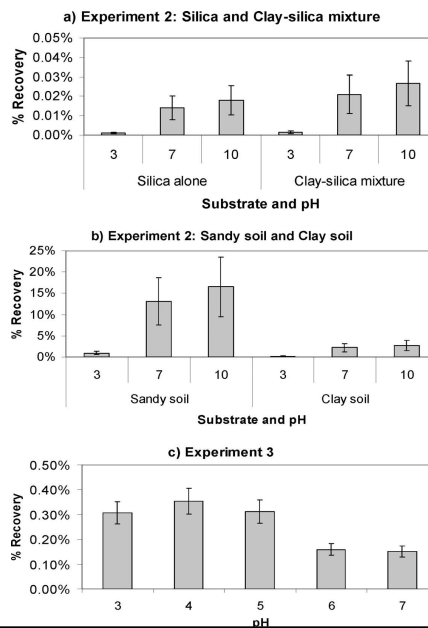
Trasmissione del MAP

Figure 2: Proportion of sheep shedding MAP in milk and faeces

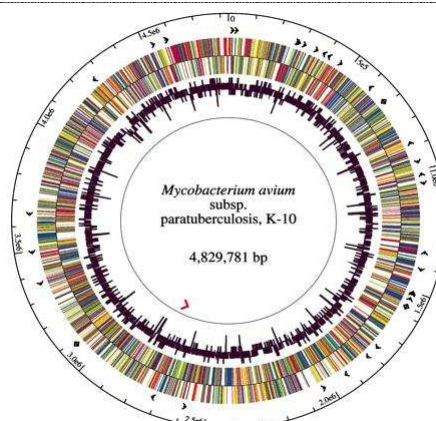


Predicted means \pm standard errors for the proportions of *M. avium* subsp. *paratuberculosis* recovered in the eluent (after adjusting for those retained in the blank) from columns with different substrates maintained at different pH levels.

Dhand N K et al. Appl. Environ. Microbiol. 2009; doi:10.1128/AEM.00557-09



Genoma del MAP tipo K-10



The *Map* strain used for sequencing, K-10, was originally isolated from a dairy herd in Wisconsin by investigators of the USDA National Animal Disease Center

IS900 RFLP profiles observed in this study.

MSM C1 C3 C5 CU4 CU5 CU6 CU7 CU8 I8 I9 I10 I11 S1 MSM

8.6
7.4
6.1
4.9
3.6
2.8
2.0
1.9
1.5

Whittington R J et al. J. Clin. Microbiol. 2011;
doi:10.1128/JCM.00210-11

Journal of Clinical Microbiology

Journals.ASM.org | Copyright © American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

In silico comparison of the *M. avium* subsp. *avium* (MAA) 104 genome sequence with the *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) K10 genome sequences corresponding to the S strain deletions identified in this study.

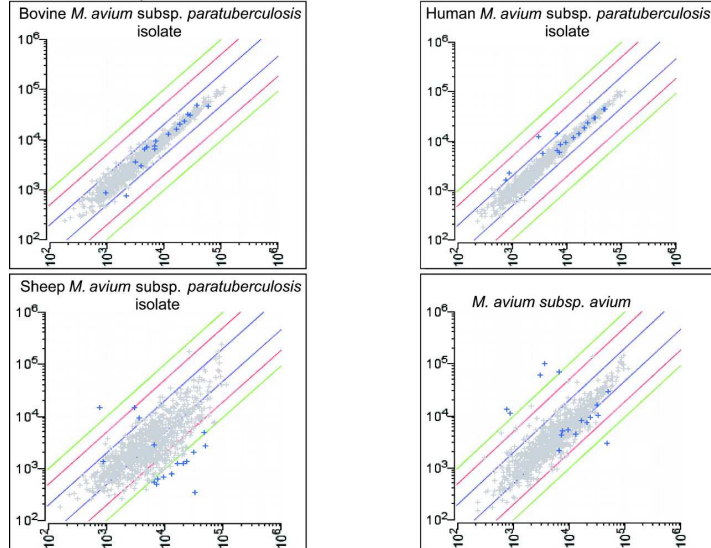
Marsh I B et al. J. Bacteriol. 2006; doi:10.1128/JB.188.6.2290-2293.2006

A

Scatter plots representing differentially regulated genes in cells stimulated with cattle, human, and sheep *M. avium* subsp. *paratuberculosis* isolates and *M. avium* subsp. *avium*.

Motiwala A S et al. Infect. Immun. 2006;
doi:10.1128/IAI.00326-06

Log log plots comparing differentially regulated genes in cells stimulated with bovine, human, sheep *M. paratuberculosis* isolates and *M. avium* relative to unstimulated cells



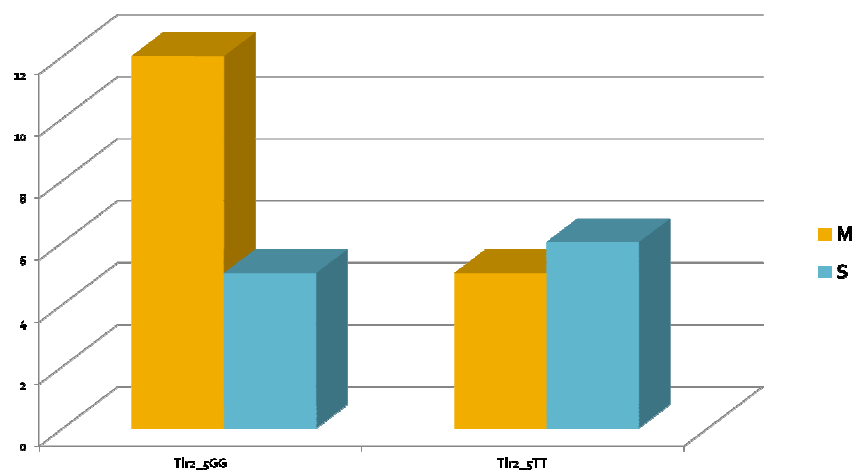
Suscettibilità e resistenza al MAP

- Approccio gene candidato
- Polimorfismi lungo tutto il genoma

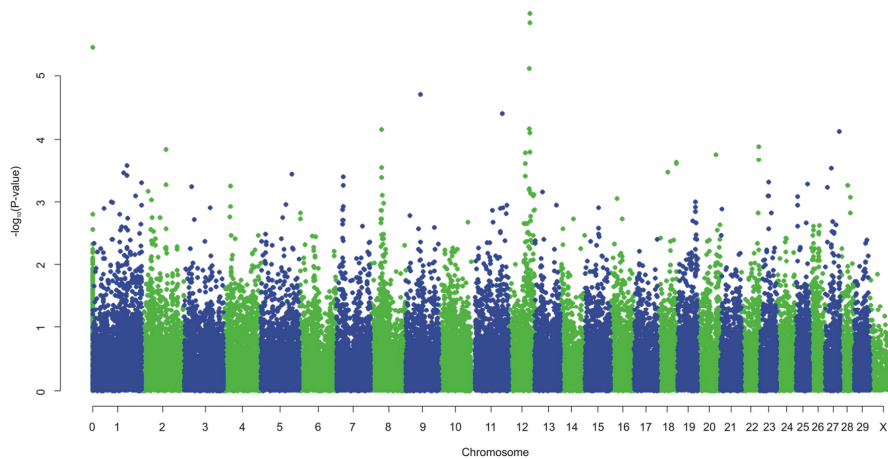
Geni candidati: associazione tra polimorfismi e suscettibilità

gene	malati	sani	media
Card15_ex4	0.56	0.45	0.52
Card15_ex5_6	1.00	0.73	0.89
Card15_Int5_6	1.00	0.80	0.93
IL2_1	1.44	1.36	1.41
Tlr2_5	0.59	1.09	0.79
TNF_2	0.53	0.55	0.54

Geni candidati: associazione tra polimorfismi e suscettibilità TLR2

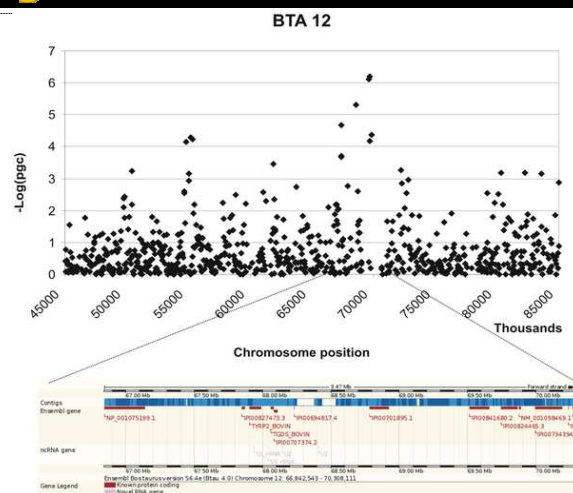


Associazione tra polimorfismi genomici e suscettibilità



Minozzi G, Buggiotti L, Stella A, Strozzi F, Luini M, et al. 2010 Genetic Loci Involved in Antibody Response to *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in Cattle. PLoS ONE 5(6): e11117. doi:10.1371/journal.pone.0011117

Associazione tra polimorfismi genomici e suscettibilità



Minozzi G, Buggiotti L, Stella A, Strozzi F, Luini M, et al. 2010 Genetic Loci Involved in Antibody Response to *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in Cattle. PLoS ONE 5(6): e11117. doi:10.1371/journal.pone.0011117

Suscettibilità e resistenza al MAP

- Approccio gene candidato
- Polimorfismi lungo tutto il genoma
- **Sequenziamento completo del genoma**

Progetto Ministero della Salute

- **Project Title:** High throughput parallel sequencing of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* in sheep, of affected/non affected sheep transcriptome and of environmental samples.
- **Principal Investigator:** Dr. Luigi De Grossi

Progetto Ministero della Salute

- Valutare la sequenza completa dei ceppi diversi da quello presente in letteratura (bovino), in particolare ceppi di pecore che sono di particolare importanza in Italia
- Valutare la risposta del sistema immunitario contro il MAP. Questo si ottiene con il sequenziamento del profilo del trascrittoma di animali affetti e non dello stesso gregge.
- Rilevare la presenza di Map nel terreno, dove il batterio può durare per molto tempo, utilizzando la sequenza NGS nella prima fase al fine di scoprire siti mirati suscettibili di metodi di rilevamento meno costosi

Progetto Ministero della Salute

- Valutare la sequenza completa dei ceppi diversi da quello presente in letteratura (bovino), in particolare ceppi di pecore che sono di particolare importanza in Italia
- Valutare la risposta del sistema immunitario contro il MAP. Questo si ottiene con il sequenziamento del profilo del trascrittoma di animali affetti e non dello stesso gregge.
- Rilevare la presenza di Map nel terreno, dove il batterio può durare per molto tempo, utilizzando la sequenza NGS nella prima fase al fine di scoprire siti mirati suscettibili di metodi di rilevamento meno costosi

Progetto Ministero della Salute

- Valutare la sequenza completa dei ceppi diversi da quello presente in letteratura (bovino), in particolare ceppi di pecore che sono di particolare importanza in Italia
- Valutare la risposta del sistema immunitario contro il MAP. Questo si ottiene con il sequenziamento del profilo del trascrittoma di animali affetti e non dello stesso gregge.
- Rilevare la presenza di MAP nel terreno, dove il batterio può durare per molto tempo, utilizzando la sequenza NGS nella prima fase al fine di scoprire siti mirati suscettibili di metodi di rilevamento meno costosi